

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 802**

51 Int. Cl.:

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61K 31/428 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.02.2014 PCT/IB2014/059270**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14132205**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.02.2014 E 14708700 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017 EP 2961391**

54 Título: **Formulación que comprende un compuesto de benzotiazolona**

30 Prioridad:

28.02.2013 US 201361770584 P

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

17.10.2017

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**ACHOUR, MILOUD;
FAIRHURST, ROBIN ALEC;
GRANDEURY, ARNAUD;
HATAKEYAMA, SHINJI;
KOZICZAK-HOLBRO, MAGDALENA;
TUFILLI, NICOLA y
ULLRICH, THOMAS**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 637 802 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 que comprende un compuesto de benzotiazolona

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas novedosas que comprenden (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, a métodos para la elaboración de estas composiciones, y al uso de las mismas en el tratamiento o en la prevención de enfermedades, tales como distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

Antecedentes de la Invención

- 10 Los compuestos de benzotiazolona, los cuales son agonistas del adreno-receptor beta-2 se describen en las Publicaciones Internacionales Números WO2004/16601 y WO2006/056471. La Publicación Internacional Número WO2005/110990 también describe heterociclos benzo-condensados como agonistas de beta-2.

Aunque los agonistas de beta-2 han sido conocidos durante mucho tiempo por sus propiedades broncodilatadoras, también son conocidos por su capacidad para producir hipertrofia de músculo esquelético.

- 15 Numerosos estudios se han enfocado en las aplicaciones terapéuticas de las propiedades anabólicas de los agonistas de beta-2 para mitigar la consunción muscular y mejorar la función muscular. Sin embargo, esta clase de compuestos también se ha asociado con efectos secundarios indeseables, incluyendo un mayor riesgo de eventos adversos relacionados con el sistema cardiovascular. Por consiguiente, el uso de agonistas de beta-2 en las enfermedades de consunción muscular ha sido limitado hasta ahora por la hipertrofia cardíaca y por los efectos potencialmente perjudiciales sobre la función cardiovascular.

- 20 Existe una necesidad de proporcionar nuevos agonistas de beta-2 que sean buenos fármacos candidatos. En particular, un nuevo agonista de beta-2 debe enlazarse potentemente al adreno-receptor beta-2, mientras que muestre poca afinidad por otros receptores, tales como, por ejemplo, el adreno-receptor beta-1, el adreno-receptor alfa-1A, o el receptor 5HT_{2C}, y que muestre la actividad funcional como un agonista. Debe ser metabólicamente estable y poseer propiedades farmacocinéticas favorables. No debe ser tóxico, y debe demostrar pocos efectos secundarios, en particular menos efectos secundarios cardíacos que los agonistas de beta-2 comercializados conocidos, tales como, por ejemplo, el formoterol. Adicionalmente, el fármaco candidato ideal existirá en una forma física que sea estable, no higroscópica y fácilmente formulada.
- 25

Resumen de la invención

- 30 Por consiguiente, existe una necesidad de proporcionar un compuesto que tenga cuando menos algunas de las propiedades descritas anteriormente, en donde el compuesto esté en una forma física que pueda mejorar la eficiencia, biodisponibilidad, estabilidad y/o aceptación por el paciente.

- 35 Se pretende alcanzar estos objetivos proporcionando una composición como se describe en el presente documento, proporcionando la composición para su uso en enfermedades, en particular para el tratamiento de distrofia muscular, atrofia por desuso, caquexia o sarcopenia, como se describe en la presente, y proporcionando un proceso para producir la composición que se describe en el presente documento.

Se describen aquí diversas realizaciones de la invención.

- 40 Dentro de ciertos aspectos, este documento proporciona una composición farmacéutica en forma de dosificación oral sólida que comprende del 0.01 % al 15 % (peso/peso) de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está en la forma de sal de acetato.

En otra realización, la invención proporciona un método para la elaboración de dicha composición farmacéutica.

En otra realización, la invención proporciona un método de tratamiento o prevención de la distrofia muscular, atrofia por desuso, caquexia o sarcopenia, el cual comprende la administración de dicha composición farmacéutica.

- 45 Declaración de la Invención

El compuesto de la invención es un agonista selectivo de beta-2. En particular, muestra un aumento de afinidad por

- 5 el adreno-receptor beta-2, la cual es mayor que su afinidad por el adreno-receptor beta-1 o el adreno-receptor alfa-1A, comparándose con los agonistas de beta-2 conocidos, tales como el formoterol. De una manera sorprendente, también muestra una afinidad más baja por el receptor de serotonina (5HT_{2c}), y una potencia funcional más baja en las células que expresan el 5HT_{2c} que su racemato o su enantiómero correspondiente, indicando que no afecta a la actividad locomotora y a la ingestión de alimento que pueda provocar una reducción del peso corporal, contrarrestando potencialmente la hipertrofia de músculo esquelético inducida por el agonista de beta-2. Los efectos negativos de los agonistas del receptor 5HT_{2c} sobre la entrada de energía y el peso corporal son descritos por J. Halford y J. Harrold en *Handb Exp Pharmacol.* 2012; (209) 349-56.
- 10 La composición de la presente invención que comprende el compuesto de la invención es, por consiguiente, potencialmente útil en el tratamiento de una amplia gama de trastornos, en particular en el tratamiento o en la prevención de enfermedades de consunción muscular, tales como distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.
- El tratamiento de caquexia también es también un uso contemplado. Todas las formas de caquexia son potencialmente tratables con la composición de la presente invención, incluyendo caquexia por cáncer, por ejemplo.
- 15 Breve descripción de las Figuras
- La Figura 1 muestra el aumento de la masa de músculo esquelético y de la masa cardíaca en ratas inyectadas con formoterol contra el compuesto A (compuesto de la invención) - (los valores se expresan como el promedio ± SEM (n = 5-6); grupo de músculos esqueléticos (gastrocnemio-sóleo-tibial) normalizado por el peso corporal inicial; peso del corazón normalizado por el peso del cerebro.
- 20 La Figura 2a muestra el aumento de la frecuencia cardíaca en los nódulos sino-auriculares aislados de conejo cuando se utiliza formoterol contra el compuesto A (compuesto de la invención).
- La Figura 2b muestra el aumento de actividad del marcapasos en corazones de conejo aislados cuando se utiliza formoterol contra el compuesto A (compuesto de la invención).
- 25 Las Figuras 3a y 3b muestran el cambio en la frecuencia cardíaca en ratas después de un bolo subcutáneo a s.c. del compuesto A (compuesto de la invención) o formoterol, respectivamente.
- La Figura 3c compara el cambio en la frecuencia cardíaca promedio en ratas cuando se administra formoterol contra el compuesto A (compuesto de la invención).
- Las Figuras 4a y 4b muestran el cambio en la frecuencia cardíaca en monos Rhesus después de un bolo subcutáneo del compuesto A (compuesto de la invención) o formoterol, respectivamente.
- 30 La Figura 5 muestra el patrón de difracción en polvo de rayos-X de la sal de acetato cristalina del compuesto A (compuesto de la invención).
- Descripción detallada
- 35 La invención proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metilpropan-2-il-amino)-1-hidroxietil)-5-hidroxibenzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- En lo siguiente, a menos que se especifique de otra manera, los términos tienen el siguiente significado.
- Una composición farmacéutica como se utiliza en la presente, es una mezcla que contiene el ingrediente activo para administrarse a un mamífero, por ejemplo, a un ser humano, con el objeto de prevenir, tratar o controlar una enfermedad o condición particular que afecte al mamífero.
- 40 El término "farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente, se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance de un buen juicio médico, son adecuados para hacer contacto con los tejidos de los mamíferos, en especial de los seres humanos, sin una toxicidad, irritación, o respuesta alérgica excesiva, y otras complicaciones problemáticas, de una manera conmensurada con una proporción razonable de beneficio/riesgo.
- 45 Típicamente, el término "ingrediente activo" se refiere a cualquier compuesto, sustancia, fármaco, medicamento, o ingrediente activo que tiene un efecto terapéutico o farmacológico, y el cual es adecuado para su administración a un mamífero, por ejemplo, a un ser humano, en una composición que es particularmente adecuada para su

administración oral.

En la composición farmacéutica de la presente invención, el ingrediente activo es la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

5 Como se utiliza en la presente, el término "compuesto A", "compuesto de la invención" o "el compuesto de la presente invención" se refiere a la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

En las composiciones farmacéuticas de la invención, el ingrediente activo de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se proporciona en la forma de sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

10 Como se utiliza en la presente, la estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema R-S de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada átomo de carbono quiral se puede especificar mediante cualquiera de *R* o *S*. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce, pueden ser designados como (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextrógira o levógira) en la que rotan la luz polarizada en el plano en la longitud de onda de la línea de sodio D. Cualquier átomo asimétrico (por ejemplo, carbono, o similares) de un compuesto puede estar presente en una configuración racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo, en la configuración (*R*), (*S*) o (*R,S*). La mezcla racémica 50:50 de estereoisómeros se designa como (*R,S*), y las formas enantioméricamente enriquecidas por el exceso enantiomérico de las formas (*R*) a (*S*), respectivamente, o de (*S*) a (*R*). El exceso enantiomérico es representado usualmente mediante la ecuación: $ee = ((m1 - m2) / (m1 + m2)) * 100\%$, en donde *m1* y *m2* representan la masa de las formas enantioméricas *R* y *S* respectivas.

El compuesto de la presente invención contiene un centro asimétrico, el cual se define en términos de estereoquímica absoluta como (*R*). Su enantiómero correspondiente se define como (*S*), el cual es la forma menos activa.

25 En ciertas realizaciones de la invención, el átomo asimétrico tiene un exceso enantiomérico de cuando menos el 95, 98 o 99 % en la configuración (*R*).

30 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está presente en un exceso enantiomérico de cuando menos el 95 %. En esta realización, la composición de preferencia comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

35 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está presente en un exceso enantiomérico de cuando menos el 98 %. En esta realización, la composición de preferencia comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

45 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está presente en un exceso enantiomérico de cuando menos el 99 %. En esta realización, la composición de preferencia comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

50 Dependiendo de la elección de los materiales de partida y de los procedimientos para la síntesis química, los compuestos pueden estar presentes en la forma de uno de los posibles isómeros o como mezclas de los mismos,

por ejemplo, como los isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como racematos. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver empleando las técnicas convencionales. Se pretende que se incluyan todas las formas tautoméricas del compuesto de la presente invención.

5 De conformidad con lo anterior, como se utiliza en la presente, el compuesto de la presente invención puede estar en la forma de tautómeros o mezclas de los mismos.

10 Cualesquiera racematos resultantes de los productos finales o intermediarios de síntesis se pueden resolver en los antípodas ópticos mediante los métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diaestereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o con una base ópticamente activa, y la liberación del compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por consiguiente, se puede emplear una fracción básica para resolver el compuesto de la presente invención en sus antípodas ópticos, por ejemplo, mediante la cristalización fraccionaria de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido diacetil-tartárico, ácido di-O,O'-p-toluoil-tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos o enantioméricamente enriquecidos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), utilizando un adsorbente quiral.

15 En la presente invención, la composición farmacéutica comprende la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en una forma de sal de acetato.

20 Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto utilizado en la presente invención se pueden sintetizar a partir de una fracción básica, mediante los métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas de base libre del compuesto con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En términos generales, es recomendable el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando sea practicable. Las listas de las sales adecuadas adicionales se pueden encontrar, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20^a Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2^a edición revisada, 2011).

25 En un aspecto de la presente invención, la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se forma mediante la reacción de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con ácido acético en un solvente adecuado.

30 En cierto aspecto de la invención, la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se forma de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 3.

35 En cierto aspecto de la invención, la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se forma de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 3a.

A menos que se informe de otra manera, la concentración de ingrediente activo en la composición farmacéutica de la invención, se proporciona en porcentaje en peso/peso de la base libre de dicho ingrediente activo.

La composición farmacéutica de la invención comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso) del ingrediente activo.

En una realización, comprende del 0.01 al 10 % (peso/peso) del ingrediente activo.

40 En una realización, comprende 0.01 a 5 % (peso/peso) del ingrediente activo.

En una realización, comprende del 0.01 al 2 % (peso/peso) del ingrediente activo.

En una realización, comprende del 0.1 al 1 % (peso/peso) del ingrediente activo.

Las composiciones de la invención son adecuadas para su administración oral.

45 Adicionalmente, el compuesto utilizado en la presente invención, incluyendo su sal de acetato, también se puede obtener en la forma de sus hidratos, o puede incluir otros solventes utilizados para su cristalización. El compuesto de la presente invención puede formar, inherentemente o por diseño, solvatos con solventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por consiguiente, se pretende que la invención abarque las formas tanto solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular del compuesto de la presente invención

(incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables del mismo), con una o más moléculas de solvente. Estas moléculas de solvente son aquéllas comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas como inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo en donde la molécula de solvente es agua.

- 5 Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquéllos en donde el solvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido por ejemplo, D₂O, d₆-acetona, d₆-DMSO.

El compuesto de la presente invención, incluyendo su sal de acetato, hidratos y solvatos del mismo, puede formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.

- 10 El término "amorfo" describe un estado físico que no es cristalino y se puede verificar mediante difracción de rayos-X y otros medios, incluyendo, pero no limitándose a, observación con un microscopio de luz polarizada y calorimetría de exploración diferencial.

- 15 El término "cristal" describe una forma del estado sólido de la materia, la cual es distinta de una segunda forma – el estado sólido amorfo, que existe esencialmente como un sólido desorganizado, heterogéneo. Los cristales son matrices tridimensionales regulares de átomos, iones, moléculas o conjuntos moleculares. Los cristales son matrices reticulares de bloques de construcción llamados unidades asimétricas (que consisten en la sustancia que se cristalizó) que están dispuestos de acuerdo con simetrías bien definidas en celdas unitarias que se repiten en tres dimensiones.

- 20 El término "polimorfo", como se usa en la presente, se refiere a las formas cristalinas que tienen la misma composición química pero diferentes configuraciones espaciales de las moléculas, átomos y/o iones que forman el cristal.

En la presente invención, el ingrediente activo puede estar en la forma de polimorfos, tales como el polimorfo descrito en el ejemplo 4.

- 25 La (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en la forma de la sal de acetato, usada en la invención, puede ser capaz de formar co-cristales con formadores de co-cristales adecuados. Estos co-cristales se pueden preparar a partir de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona mediante los procedimientos conocidos de formación de co-cristales. Tales procedimientos incluyen molienda, calentamiento, co-sublimación, co-fusión, o poner en contacto en solución la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con el formador de co-cristales bajo condiciones de cristalización, y aislar los co-cristales así formados. Los formadores de co-cristales adecuados incluyen los descritos en la Publicación Internacional Número WO 2004/078163. Un co-cristal se refiere a un material cristalino que comprende dos o más sólidos únicos a temperatura ambiente, conteniendo cada uno características físicas distintivas, tales como estructura, punto de fusión y calores de fusión.

- 35 Como se usa en la presente, un vehículo o portador es una composición farmacéuticamente aceptable que transporta un fármaco a través de la membrana biológica o dentro de un fluido biológico.

- 40 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en una forma cristalina. En dicha realización, la composición de preferencia comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

- 45 En otra realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en una forma cristalina sustancialmente pura. En dicha realización, la composición de preferencia comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.

- 50 Como se utiliza en la presente, "sustancialmente pura", cuando se utiliza con referencia a la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina, significa que tiene una pureza mayor del 90 % en peso, incluyendo mayor del 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, y 99

% en peso, y también incluyendo igual a aproximadamente el 100 % en peso de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, basándose en el peso del compuesto.

5 La presencia de impurezas de la reacción y/o impurezas del procesamiento se puede determinar mediante las técnicas analíticas conocidas en la materia, tales como, por ejemplo, cromatografía, espectroscopía de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, o espectroscopía infrarroja.

10 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende una forma cristalina de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X con cuando menos uno, dos o tres picos que tiene valores de ángulo de refracción 2θ (θ) seleccionados a partir de 8.8, 11.5, 16.4, 17.6, 18.2, 19.6, 20.1, 20.8, y 21.1°, cuando se miden utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$, más particularmente en donde estos valores son más o menos $0.2^\circ 2\theta$.

15 En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende una forma cristalina de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X con un valor de pico en un ángulo de refracción 2θ de 8.8° , cuando se mide utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$, más particularmente en donde este valor es más o menos $0.2^\circ 2\theta$.

20 En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende una forma cristalina de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X con un valor de pico en un ángulo de refracción 2θ de 16.4° , cuando se mide utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$, más particularmente en donde este valor es más o menos $0.2^\circ 2\theta$.

25 En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende una forma cristalina de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X con un valor de pico en un ángulo de refracción 2θ de 20.8° , cuando se mide utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$, más particularmente en donde este valor es más o menos $0.2^\circ 2\theta$.

30 En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende una forma cristalina de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente igual al patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 5 cuando se mide utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$. Para los detalles véase el Ejemplo 4.

35 El término "sustancialmente igual" con referencia a las posiciones de picos de la difracción de rayos-X, significa que se toman en cuenta la posición típica del pico y la variabilidad de la intensidad. Por ejemplo, una persona experta en la materia apreciará que las posiciones de picos (2θ) mostrarán alguna variabilidad inter-aparatos, típicamente de tanto como 0.2° . Además, una persona experta en la materia apreciará que las intensidades relativas de los picos mostrarán una variabilidad inter-aparatos, así como una variabilidad debida al grado de cristalinidad, a la orientación preferida, a la superficie de muestra preparada, y a otros factores conocidos por los expertos en este campo, y deberán tomarse solamente como medidas cualitativas.

40 Un experto ordinario en este campo también apreciará que se puede obtener un patrón de difracción de rayos-X con un error de medición que es dependiente de las condiciones de medición empleadas. En particular, se sabe en general que las intensidades en un patrón de difracción de rayos-X pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición empleadas. Se debe entender además que las intensidades relativas también pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales y, de conformidad con lo anterior, no se debe tomar en cuenta el orden exacto de la intensidad. Adicionalmente, un error de medición del ángulo de difracción para un patrón de difracción de rayos-X convencional es típicamente de aproximadamente el 5 % o menos, y ese grado del error de medición se debe tomar en cuenta como perteneciente a los ángulos de difracción anteriormente mencionados. En consecuencia, se debe entender que las formas de cristal de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona no están limitadas a la forma de cristal que proporcione un patrón de difracción de rayos-X completamente idéntico al patrón de difracción de rayos-X ilustrado en la Figura 5 adjunta que se da a conocer en la presente. Cualesquiera formas de cristal que proporcionen patrones de difracción de rayos-X sustancialmente idénticos a aquéllos que se dan a conocer en la Figura 5 adjunta, caen dentro del alcance de la presente invención. La capacidad para aseverar las identidades sustanciales de patrones de difracción de rayos-X está dentro del alcance de un experto ordinario en este campo.

55 Como se utiliza en la presente, el término "un excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente

5 farmacéuticamente aceptable que se utiliza comúnmente en la tecnología farmacéutica para la preparación de
 granulados y/o formulaciones de dosificación orales sólidas. Los ejemplos de las categorías de excipientes incluyen,
 pero no se limitan a, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, deslizantes, rellenos y diluyentes. Un experto
 ordinario en la técnica puede seleccionar uno o más de los excipientes mencionados anteriormente con respecto a
 las propiedades particulares deseadas del granulado y/o forma de dosificación oral sólida mediante experimentación
 de rutina y sin ninguna dificultad. La cantidad de cada excipiente utilizado puede variar dentro de los rangos
 convencionales en la técnica. Las siguientes referencias, que son incorporadas a la presente como referencia,
 describen las técnicas y los excipientes usados para formular las formas de dosificación orales. Véase el "Handbook
 of Pharmaceutical Excipients", cuarta edición, Rowe y colaboradores, Editores, American Pharmaceuticals
 Association (2003); y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edición, Gennaro, Editor, Lippincott
 Williams & Wilkins (2000).

15 Los excipientes típicos incluyen antioxidantes. Los antioxidantes pueden ser usados para proteger a los ingredientes
 de la composición de los agentes oxidantes que se incluyen dentro de, o entran en contacto con, la composición.
 Los ejemplos de los antioxidantes incluyen antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, sulfito de
 sodio, metabisulfito, miosulfito de sodio, formaldehído sódico, sulfoxilato, ácido isoascórbico, clorhidrato de cisteína,
 1,4-diazobicyclo-(2,2,2)-octano, y mezclas de los mismos. Los ejemplos de los antioxidantes solubles en aceite
 incluyen palmitato de ascorbilo, hidroxil-anisol butilado, hidroxil-tolueno butilado, propil-galato de potasio, octil-galato,
 dodecil-galato, fenil- α -naftil-amina, y tocoferoles tales como α -tocoferol.

20 Los ejemplos de los aglutinantes farmacéuticamente aceptable incluyen, pero no se limitan a, almidones; celulosas,
 y derivados de los mismos; copolímero de 1-vinil-2-pirrolidona y acetato de vinilo; sacarosa; dextrosa; jarabe de
 maíz; polisacáridos; y gelatina. Los ejemplos de las celulosas y los derivados de las mismas incluyen, por ejemplo,
 celulosa microcristalina, por ejemplo, AVICEL PH de FMC (Filadelfia, PA), hidroxil-propil-celulosa, hidroxil-etil-celulosa
 e hidroxil-propil-metil-celulosa, METHOCEL de Dow Chemical Corp. (Midland, MI); HP-Celulosa 100 (Klucel LF). El
 copolímero de 1-vinil-2-pirrolidona y acetato de vinilo se puede adquirir como Kollidon VA64 en BASF.

25 En la presente invención, el aglutinante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a
 aproximadamente el 20 % en peso de la composición.

Los aglutinantes preferidos para la composición farmacéutica de la invención incluyen HP-Celulosa 100 (Klucel LF),
 y copolímero de 1-vinil-2-pirrolidona y acetato de vinilo.

30 Se pueden utilizar agentes reguladores del pH para mantener un pH establecido de la composición. Los ejemplos de
 los agentes reguladores del pH incluyen citrato de sodio, acetato de calcio, metafosfato de potasio, fosfato de
 potasio monobásico, y ácido tartárico.

Los agentes de volumen son ingredientes que pueden proporcionar volumen a una composición farmacéutica. Los
 ejemplos de los agentes de volumen incluyen, sin limitación, PEGs, manitol, trehalosa, lactosa, sacarosa, polivinil-
 pirrolidona, sacarosa, glicina, ciclodextrinas, dextrano, y derivados y mezclas de los mismos.

35 Los tensoactivos son agentes utilizados para estabilizar las composiciones de múltiples fases, por ejemplo, utilizados
 como agentes humectantes, agentes antiespumantes, emulsionantes, agentes dispersantes, y penetrantes. Los
 tensoactivos también se pueden utilizar opcionalmente en la composición farmacéutica de la invención. Los
 tensoactivos incluyen, pero no se limitan a, ácido graso y sulfonatos de alquilo; cloruro de benzetonio, por ejemplo,
 HYAMINE 1622 de Lonza, Inc. (Fairlawn, NJ); ésteres de ácidos grasos de sorbitán de polioxietileno, por ejemplo, la
 Serie TWEEN de Uniqema (Wilmington, DE); y tensoactivos naturales, tales como ácido taurocólico sódico, 1-
 palmitoil-2-Sn-glicero-3-fosfololina, lecitina, y otros fosfolípidos. Estos tensoactivos, por ejemplo, minimizan la
 aglomeración de las partículas liofilizadas durante la reconstitución del producto. Los tensoactivos, si están
 presentes, se utilizan típicamente en una cantidad de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 5 % en
 peso/volumen.

45 Un co-tensoactivo es un agente de actividad superficial que actúa en adición al tensoactivo mediante la reducción
 adicional de la energía interfacial, pero que no puede formar aglomerados micelares por sí mismo. Los co-
 tensoactivos, por ejemplo, pueden ser hidrófilos o lipófilos. Los ejemplos de un co-tensoactivo incluyen, pero no se
 limitan a, alcohol cetílico y alcohol estearílico.

50 Los ejemplos de los desintegrantes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, almidones, por
 ejemplo, (almidón de carboxi-metilo de sodio); arcillas; celulosas, por ejemplo, hidroxil-propil-celulosa de baja
 sustitución; alginatos; gomas; polímeros reticulados, por ejemplo, polivinil-pirrolidona reticulada o crospovidona, por
 ejemplo, POLIPLASDONE XL de International Specialty Products (Wayne, NJ); carboxi-metil-celulosa de sodio
 reticulada o croscarmelosa de sodio, por ejemplo, AC-DI-SOL de FMC; y carboxi-metil-celulosa de calcio reticulada;
 polisacáridos de soya; y goma guar. En la presente invención, el desintegrante puede estar presente en una
 55 cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 20 % en peso de la composición.

Los desintegrantes preferidos para la composición farmacéutica de la invención incluyen almidón de carboxi-metilo de sodio, hidroxipropil-celulosa de baja sustitución, carboxi-metil-celulosa de sodio reticulada, o croscarmelosa de sodio (por ejemplo, AC-DI-SOL).

5 Los ejemplos de los rellenos farmacéuticamente aceptables y diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, azúcar de confitería, azúcar comprimible, dextratos, dextrina, dextrosa, lactosa, manitol, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, sorbitol, sacarosa y talco. En la presente invención, el relleno y/o diluyente puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 90 % en peso de la composición.

10 Los rellenos y/o diluyentes preferidos para la composición farmacéutica de la invención incluyen celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel PH101), lactosa secada por aspersión, CA-HYD-Fosfato (por ejemplo, Emcompress), manitol DC (por ejemplo, Compressol), almidón pregelatinizado (por ejemplo, STA-RX 1500).

15 Los ejemplos de los lubricantes farmacéuticamente aceptables y deslizantes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, almidones, talco, fosfato de calcio tribásico, estearato de magnesio, estearato de aluminio, estearato de calcio, carbonato de magnesio, óxido de magnesio, polietilenglicol, celulosa en polvo, y celulosa microcristalina. Típicamente, un lubricante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 0.1 % a aproximadamente el 5 % en peso de la composición; mientras que, el deslizante, por ejemplo, puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 0.1 % a aproximadamente el 10 % en peso. En la presente invención, el lubricante está de preferencia presente en la composición en una cantidad del 0.1 al 1 % (peso/peso). En la presente invención, el deslizante está de preferencia presente en la
20 composición en una cantidad del 0.1 al 1 % (peso/peso).

Los deslizantes preferidos de la composición farmacéutica de la invención incluyen Aerosil 200 y talco.

Los lubricantes preferidos de la composición farmacéutica de la invención incluyen estearato de magnesio.

25 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que pueden comprender uno o más agentes que reduzcan la velocidad a la cual se descompondrá el compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. Estos agentes, los cuales son referidos en la presente como "estabilizantes", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes, tales como ácido ascórbico, reguladores del pH, o reguladores de sales, etc.

30 También se pueden utilizar conservadores para proteger a la composición de la degradación y/o contaminación microbiana. Los ejemplos de los conservadores incluyen aceite de liquipar, fenoxi-etanol, metil-parabeno, propil-parabeno, butil-parabeno, isopropil-parabeno, isobutil-parabeno, diazolidinil-urea, imidazolidinil-urea, diazolinidil-urea, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, fenol, y mezclas de los mismos (por ejemplo, aceite de liquipar).

En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende:

del 0.01 al 10 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona;

35 del 15 al 90 % (peso/peso) de cuando menos un agente de relleno;

del 1 al 20 % (peso/peso) de un desintegrante;

del 0.1 al 1 % (peso/peso) de un deslizante; y

del 0.1 al 1 % (peso/peso) de un lubricante.

40 En dicha realización, la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se proporciona en su forma de sal de acetato.

En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica adecuada para su administración oral, la cual comprende:

del 0.01 al 10 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona;

45 del 15 al 90 % (peso/peso) de cuando menos un agente de relleno;

del 1 al 20 % (peso/peso) de un aglutinante;

del 1 al 20 % (peso/peso) de un desintegrante;

del 0.1 al 1 % (peso/peso) de un deslizante; y

del 0.1 al 1 % (peso/peso) de un lubricante.

- 5 En esta realización, la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se proporciona en su forma de sal de acetato.

10 Como se utiliza en la presente, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" del compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad de una enzima o de una proteína, o que mitigará los síntomas, aliviará las condiciones, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para: (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mitigar cuando menos parcialmente una condición, o un trastorno, o una enfermedad asociada con la actividad del adreno-receptor beta-2; o (2) aumentar o promover la actividad de adreno-receptor beta-2.

15 En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es efectiva para aumentar o promover cuando menos parcialmente la actividad de adreno-receptor beta-2. El significado del término "una cantidad terapéuticamente efectiva", como se ilustra en la realización anterior para el adreno-receptor beta-2, también se aplica mediante el mismo significado a cualesquiera otras proteínas/péptidos/enzimas relevantes, tales como miméticos de IGF-1 o bloqueadores de ActRIIB/miostatina, y similares.

20 Como se utiliza en la presente, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, a seres humanos, masculinos o femeninos), reses, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En todavía otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

25 Como se utiliza en la presente, el término "inhibir", "inhibición" o "inhibiendo", se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma, o trastorno o enfermedad dados, o a una disminución significativa en la actividad de la línea base de una actividad o proceso biológico.

30 Como se utiliza en la presente, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno, se refiere, en una realización, a disminuir la enfermedad o el trastorno (es decir, hacer más lento o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o cuando menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mitigar cuando menos un parámetro físico, incluyendo aquéllos que puedan no ser discernibles por el paciente. En todavía otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o el trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, la estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico), o ambos. En todavía otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a prevenir o demorar el establecimiento o desarrollo o progreso de la enfermedad o del trastorno.

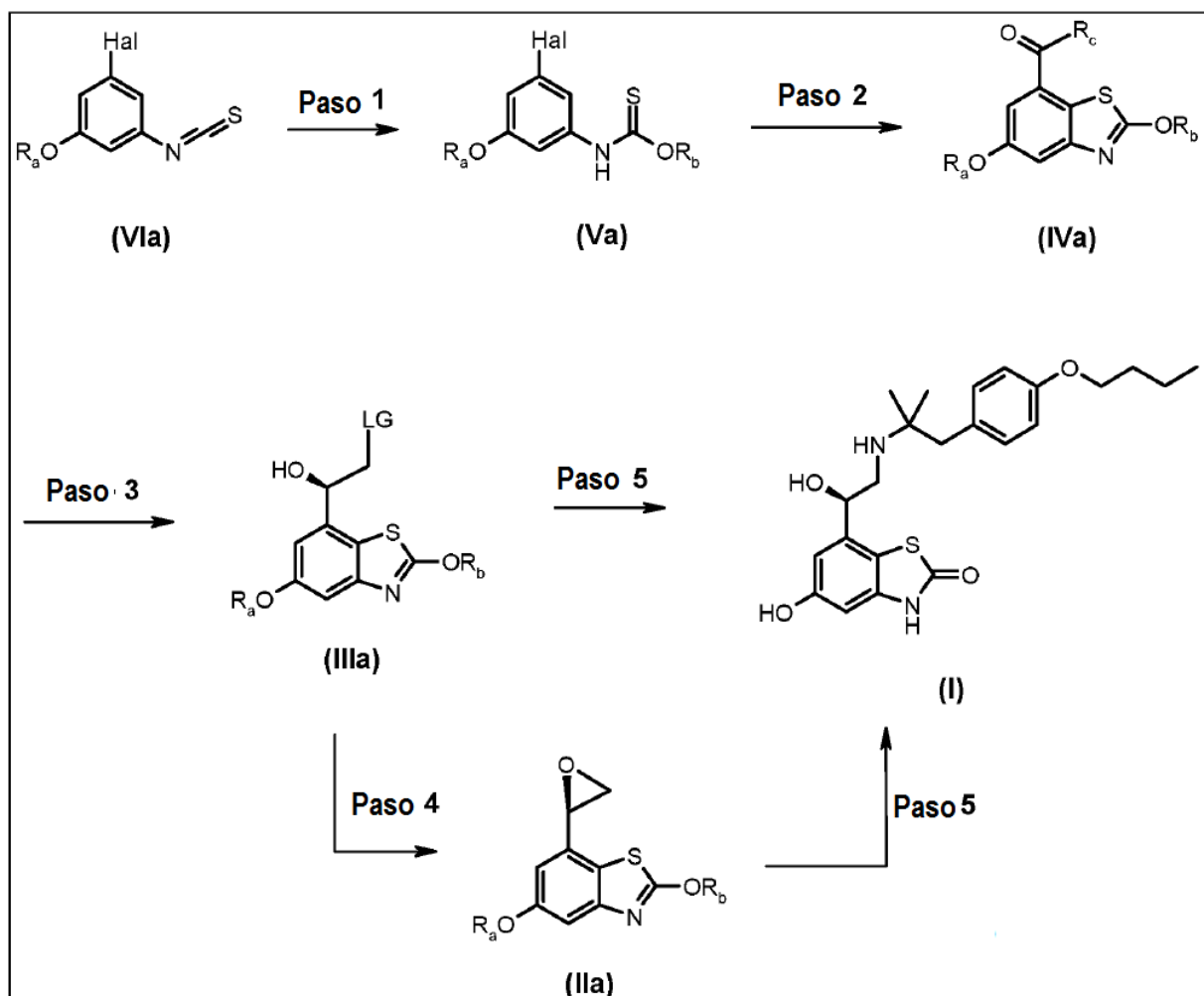
35 Como se utiliza en la presente, un sujeto tiene "necesidad de" tratamiento si este sujeto se beneficiaría biológicamente, médicamente, o en su calidad de vida, a partir de dicho tratamiento.

40 Como se utilizan en la presente, los términos "un," "uno," "el" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de las reivindicaciones) se deben interpretar para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en la presente o que sea claramente contradicho por el contexto.

45 Todos los métodos descritos en la presente se pueden llevar a cabo en cualquier orden adecuado, a menos que sea indicado de otra manera en la presente, o que sea claramente contradicho de otra manera por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o de lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado en la presente, pretende meramente ilustrar mejor la invención, y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

50 La (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se puede

preparar de acuerdo con el esquema proporcionado a continuación.



Esquema 1

Los pasos del proceso se describen con más detalles a continuación.

- 5 Paso 1: Un compuesto de la fórmula (VIa), en donde Hal representa halógeno y R_a es un grupo protector, se hace reaccionar con un compuesto de la fórmula R_bOH en donde R_b es un grupo protector, en la presencia de una base adecuada, por ejemplo, trietil-amina, para dar un compuesto de la fórmula (Va), en donde Hal representa halógeno y R_a y R_b son grupos protectores.
- 10 Paso 2: Un compuesto de la fórmula (Va) se hace reaccionar con una base fuerte adecuada, por ejemplo, *tert*-butil-litio, en un solvente adecuado, por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), en la presencia de un agente de carbonilación adecuado, por ejemplo, una amida adecuada, para dar un compuesto de la fórmula (IVa), en donde R_a y R_b son grupos protectores, y R_c es hidrógeno o cualquier fracción derivada a partir del agente de carbonilación.
- Paso 3: Un compuesto de la fórmula (IVa) se funcionaliza opcionalmente antes de la conversión estereoselectiva para dar un compuesto de la fórmula (IIIa), en donde R_a y R_b son grupos protectores, y LG es un grupo saliente.
- 15 Paso 4: Un compuesto de la fórmula (IIIa), se trata con una base adecuada, por ejemplo, bicarbonato de sodio, para dar un compuesto de la fórmula (IIa), en donde R_a y R_b son grupos protectores.
- Paso 5: Un compuesto de la fórmula (IIa) o (IIIa) se hace reaccionar con la 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina en un solvente adecuado, por ejemplo, tolueno, opcionalmente en la presencia de una base adecuada, por ejemplo,

carbonato de potasio, seguido por la desprotección en la presencia de un ácido adecuado, por ejemplo, ácido clorhídrico, para dar un compuesto de la fórmula (I).

5 Las reacciones se pueden efectuar de acuerdo con los métodos convencionales, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos. El procesamiento de las mezclas de reacción y la purificación de los compuestos que se pueden obtener de esta manera se pueden llevar a cabo de acuerdo con los procedimientos conocidos. Las sales de adición de ácido se pueden producir a partir de las bases libres de una manera conocida, y *viceversa*. En particular, la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se puede preparar como se describe en los Ejemplos 3 y 3a.

10 La (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona también se puede preparar mediante procesos convencionales adicionales, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

Los materiales de partida utilizados son conocidos o se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos convencionales, empezando a partir de los compuestos conocidos, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

15 Los presentes procesos se pueden modificar, en donde se utilice un producto intermediario que se pueda obtener en cualquier etapa del mismo como material de partida, y se llevan a cabo los pasos restantes, o en donde los materiales de partida se formen *in situ* bajo las condiciones de reacción, o en donde los componentes de la reacción se utilicen en la forma de sus sales como el material ópticamente puro.

El compuesto de la invención y los intermediarios también se pueden convertir unos en otros de acuerdo con los métodos conocidos generalmente por los expertos en este campo.

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención están en una en una forma de dosificación oral sólida. Las formas de dosificación orales sólidas incluyen, pero no se limitan a, tabletas, cápsulas duras o blandas, caplets, grageas, píldoras, mini-tabletas, aglomerados, perlas, gránulos (por ejemplo, empacados en bolsitas), o polvos. Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a las operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes, agentes lubricantes, o agentes reguladores del pH convencionales, así como adyuvantes, tales como conservadores, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y reguladores, etc.

25 Las composiciones farmacéuticas de la invención de preferencia se formulan para su administración oral.

30 Las composiciones adecuadas para su administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención en una forma de sal de acetato en la forma de tabletas, cápsulas duras o blandas, caplets, grageas, píldoras, mini-tabletas, aglomerados, perlas, gránulos (por ejemplo, empacados en bolsitas), o polvos. Las composiciones destinadas para su uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la materia para la elaboración de composiciones farmacéuticas, y estas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados a partir del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservadores, con el objeto de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y de buen sabor. Las tabletas pueden contener al ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que sean adecuados para la elaboración de tabletas. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas quedan sin recubrimiento o se recubren mediante las técnicas conocidas para retardar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de esta manera una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso de tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina duras en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o con un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

35 En una realización, la composición farmacéutica de la invención está en la forma de una tableta o cápsula.

En una realización, las composiciones farmacéuticas son tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden al ingrediente activo en una forma de sal de acetato junto con:

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

50 b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o polietilenglicol; para tabletas también,

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metil-celulosa, copolímeros de 1-vinil-2-pirrolidona y acetato de vinilo, carboxi-metil-celulosa de sodio y/o polivinil-pirrolidona; si se desea,

5 d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido alginico, o su sal sódica, o mezclas efervescentes; celulosas; polímeros reticulados; y/o

e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

Las tabletas pueden ser ya sea con recubrimiento de película o bien con recubrimiento entérico de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

10 Las tabletas pueden estar opcionalmente recubiertas con un recubrimiento funcional o no funcional como se conoce en la materia. Los ejemplos de las técnicas de recubrimiento incluyen, pero no se limitan a, recubrimiento de azúcar, recubrimiento de película, microencapsulación y recubrimiento por compresión. Los tipos de recubrimientos incluyen, pero no se limitan a, recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación sostenida, recubrimientos de liberación controlada.

15 También se pueden preparar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras utilizando ingredientes anhidros o con un bajo contenido de humedad y condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de tal manera que se mantenga su naturaleza anhidra. De conformidad con lo anterior, las composiciones anhidras se empaquetan utilizando materiales conocidos para prevenir su exposición al agua, de tal manera que se puedan incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de los empaques adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitarias (por ejemplo, frascos), paquetes de burbujas, y paquetes de tiras.

20 Como se utiliza en la presente, una forma de dosificación unitaria es una sola forma de dosificación que tiene la capacidad para administrarse a un sujeto y ser efectiva, y la cual se puede manejar y empaquetar fácilmente, quedando como una dosis unitaria físicamente y químicamente estable que comprende al ingrediente activo.

Las tabletas se pueden elaborar mediante compresión directa o granulación.

25 En el proceso de compresión directa, los materiales en polvo incluidos en la forma de dosificación sólida típicamente se comprimen directamente sin modificar su naturaleza física. Usualmente, el ingrediente activo, los excipientes tales como un deslizante para mejorar la velocidad de flujo de la granulación de la tableta, y un lubricante para prevenir la adhesión del material de la tableta hacia la superficie de los dados y perforadoras de la prensa de tabletas, se mezclan en una mezcladora de ejes gemelos o aparato de bajo esfuerzo cortante similar antes de ser comprimidos en tabletas.

30 La granulación es un proceso en donde se forman granulados. Estos granulados se someten entonces a compresión directa para formar una tableta, o a encapsulación para formar una cápsula. Los granulados se pueden formar mediante granulación en húmedo que incluye:

35 a) formar una mezcla de polvo del ingrediente activo y cuando menos un excipiente farmacéuticamente aceptable;

b) agregar un líquido de granulación a la mezcla de polvo con agitación para formar una masa húmeda;

c) granular la masa húmeda para formar granulados húmedos;

d) secar los granulados húmedos para formar granulados;

e) tamizar los granulados.

40 De una manera alternativa, los granulados se pueden formar mediante granulación en lecho fluido que incluye:

a) suspender partículas de un material (por ejemplo, un material inerte o el ingrediente activo) con, por ejemplo, una corriente de aire ascendente en una columna vertical;

b) atomizar un material granular en la columna;

c) permitir que las partículas sean recubiertas con el material granular, dando como resultado granulados.

Otra alternativa para la producción de granulados incluye la granulación por fusión. Este proceso incluye:

- a) formar una mezcla de un ingrediente activo con cuando menos un retardante de liberación, por ejemplo, un polímero de retardante de liberación, y opcionalmente, un plastificante;
- 5 b) granular la mezcla utilizando una extrusora u otro equipo adecuado, por ejemplo un mezclador con camisa de alto esfuerzo cortante, mientras se calienta la mezcla hasta una temperatura por encima de la temperatura de reblandecimiento del retardante de liberación; como se utiliza en la presente, la "temperatura de reblandecimiento" se refiere a la temperatura a la que el retardante de liberación experimenta un cambio en la velocidad de disminución de la viscosidad en función de la temperatura; y
- c) enfriar los gránulos a temperatura ambiente, por ejemplo, a una velocidad controlada.

10 Otra alternativa para la producción de granulados incluye la granulación en seco que puede incluir la compactación con rodillos o doble compresión. La compactación con rodillos es un proceso en el que los polvos uniformemente mezclados se comprimen entre dos pares de rodillos contrarrotativos para formar una lámina o listón comprimido que se muele (granula) a continuación. La doble compresión es un proceso en el que los polvos uniformemente mezclados se comprimen en tabletas grandes que posteriormente son trituradas al tamaño deseado.

15 En una realización preferida del proceso de la invención, los granulados son producidos mediante compactación con rodillo.

"Cápsulas", como se utiliza en la presente, se refiere a una formulación en donde el ingrediente activo en una forma de sal de acetato puede estar encerrado en un contenedor o cubierta soluble dura o blanda, a menudo formada de gelatina.

20 Una cápsula de gelatina dura, también conocida como una cápsula llenada en seco, está compuesta de dos secciones, una deslizándose sobre la otra y, por consiguiente, rodeando completamente (encapsulando) la formulación del fármaco.

Una cápsula elástica blanda tiene una cubierta blanda globular, por ejemplo, de gelatina.

25 En una realización, la invención se refiere a un proceso para la elaboración de una composición farmacéutica adecuada para su administración oral, el cual comprende los pasos de:

- a) mezclar la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con un agente de relleno y un deslizante para formar una premezcla;
- b) mezclar la premezcla obtenida en el paso a) con un agente de relleno adicional y un desintegrante para obtener un polvo;
- 30 c) agregar un lubricante al polvo obtenido en el paso b), para obtener una mezcla final; y
- d) procesar la mezcla final obtenida en el paso c), en una composición farmacéutica adecuada para su administración oral.

En una realización, la invención proporciona un proceso para la elaboración de una composición farmacéutica adecuada para su administración oral en la forma de una cápsula, el cual comprende los pasos de:

- 35 a) mezclar la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con un agente de relleno y un deslizante para formar una premezcla;
- b) mezclar la premezcla obtenida en el paso a) con un agente de relleno adicional y un desintegrante para obtener un polvo;
- c) agregar un lubricante al polvo obtenido en el paso b), para obtener una mezcla final; y
- 40 d) encapsular la mezcla final en una cápsula para proporcionar la composición farmacéutica.

En una realización, la invención proporciona un proceso para la elaboración de una composición farmacéutica adecuada para su administración oral en la forma de una tableta, el cual comprende los pasos de:

a) mezclar la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con un agente de relleno y un deslizante para formar una premezcla;

b) mezclar la premezcla obtenida en el paso a) con un agente de relleno adicional y un desintegrante para obtener un polvo;

5 c) agregar un lubricante al polvo obtenido en el paso b), para obtener una mezcla final; y

d) comprimir la mezcla final obtenida en el paso c) para obtener una tableta.

En una realización, la invención proporciona un proceso para la elaboración de una composición farmacéutica adecuada para su administración oral en la forma de una tableta, el cual comprende los pasos de:

10 a) mezclar la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con un agente de relleno y un deslizante para formar una premezcla;

b) mezclar la premezcla obtenida en el paso a) con un agente de relleno adicional, un aglutinante y un desintegrante para obtener un polvo;

c) agregar un lubricante al polvo obtenido en el paso b), para obtener una mezcla intermedia;

d) compactar la mezcla intermedia y moler el material compactado;

15 e) mezclar el material molido obtenido en el paso d) con una alícuota adicional de deslizante y desintegrante, y agregar una alícuota adicional de lubricante para obtener una mezcla final; y

f) comprimir la mezcla final obtenida en el paso e) para obtener una tableta.

En una realización preferida de dicho proceso, la compactación se lleva a cabo mediante compactación.

En los procesos de la invención, todos los pasos de mezcla pueden ser precedidos por un paso de tamización.

20 En los procesos de la invención, la cantidad de sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona es de preferencia de tal manera que esté presente del 0.01 al 15 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.01 al 10 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 5 % (peso/peso), todavía más preferiblemente del 0.01 al 2 % (peso/peso), más preferiblemente del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en la composición farmacéutica.

25

El ingrediente activo en la presente composición farmacéutica se puede liberar una vez que se administre a un sujeto en formas diferentes.

Los retardantes de liberación son materiales que retardan la liberación de un ingrediente activo a partir de una composición farmacéutica cuando ésta se ingiere por vía oral. Se pueden llevar a cabo diferentes sistemas de liberación sostenida, como es conocido en la técnica, mediante el uso de un componente de liberación retardada, por ejemplo, un sistema de difusión, un sistema de disolución y/o un sistema osmótico.

30

Por ejemplo, la composición farmacéutica se puede diseñar para su liberación inmediata, lo cual se refiere a la liberación rápida de la mayor parte del ingrediente activo, por ejemplo, mayor de aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 60 %, de aproximadamente el 70 %, de aproximadamente el 80 %, o de aproximadamente el 90 %, dentro de un tiempo relativamente corto, por ejemplo, dentro de 1 hora, 40 minutos, 30 minutos o 20 minutos después de su ingestión oral. Las condiciones particularmente útiles para la liberación inmediata son la liberación de por lo menos o igual a aproximadamente el 80 %, por ejemplo, hasta el 99 %, del ingrediente activo, dentro de treinta minutos después de su ingestión oral. Las condiciones de liberación inmediata particulares para un ingrediente activo específico serán reconocidas o conocidas por un experto ordinario en la materia.

35

40 De una manera alternativa, una liberación modificada, tal como la liberación controlada o retardada del ingrediente activo puede ser deseable. La liberación controlada se refiere a la liberación gradual pero sostenida durante un período relativamente prolongado del contenido de ingrediente activo después de la ingestión oral. La liberación continuará durante un período de tiempo y puede continuar hasta y después de que la composición farmacéutica alcance el intestino.

Una liberación retardada puede referirse a la liberación del principio activo que no se inicia inmediatamente cuando la composición farmacéutica llega al estómago, pero se retrasa por un período de tiempo, por ejemplo, hasta cuando la composición farmacéutica alcanza el intestino cuando se utiliza el pH creciente para desencadenar la liberación del ingrediente activo de la composición farmacéutica.

- 5 Otra alternativa incluye la liberación cronofarmacéutica que se refiere a la liberación de un ingrediente activo a un ritmo o punto de tiempo que coincide con el requerimiento biológico de una terapia de la enfermedad dada.

10 La (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, exhibe valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo, propiedades moduladoras del adreno-receptor beta-2, por ejemplo, como se indica en las pruebas *in vitro* e *in vivo* proporcionadas en las siguientes secciones y, por consiguiente, se indica para la terapia o para utilizarse como productos químicos de investigación, por ejemplo, como un compuesto de herramienta.

La (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona puede ser útil en el tratamiento de una indicación seleccionada a partir de: distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

15 Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona la composición farmacéutica como se define en la presente, como un medicamento. En una realización, la presente invención se refiere a la composición farmacéutica como se define en la presente, para utilizarse como un medicamento. En una realización adicional, la presente invención se refiere a la composición farmacéutica como se define en la presente, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

20 Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de la composición farmacéutica como se define en la presente, en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona a partir de una enfermedad que se pueda tratar mediante la activación de adreno-receptor beta-2. En otra realización, la enfermedad se selecciona a partir de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

25 En otra realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad que se trate mediante la activación de adreno-receptor beta-2, el cual comprende la administración de la composición farmacéutica como se define en la presente. En una realización adicional, la enfermedad se selecciona a partir de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

30 Un aspecto adicional de la invención, por consiguiente, se refiere a un método para el tratamiento o la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia, el cual comprende administrar la composición farmacéutica como se define en la presente, a un sujeto que lo necesite.

35 La utilidad de la composición farmacéutica de la presente invención se puede observar en los estudios clínicos convencionales, incluyendo las pruebas de biodisponibilidad, por ejemplo, en las indicaciones conocidas de dosis de fármacos que dan niveles en sangre terapéuticamente efectivos del ingrediente activo; por ejemplo, utilizando las dosificaciones en el intervalo de 0.01 a 15 miligramos de ingrediente activo al día para un mamífero de 75 kilogramos, por ejemplo, un ser humano adulto, y en los modelos animales estándares.

40 La composición farmacéutica, por ejemplo, en la forma de una tableta o cápsula o en la forma de un polvo adecuado para una formulación de tableta o cápsula, puede contener de una manera adecuada, y apropiadamente contiene cuando menos de 0.01 a 15 miligramos del ingrediente activo, de preferencia de 0.5 a 1.5 miligramos del ingrediente activo. En una realización, la forma de dosificación oral sólida contendrá aproximadamente 1 miligramo del compuesto del ingrediente activo. Estas formas de dosificación unitaria son adecuadas para su administración una a dos veces al día dependiendo del propósito particular de la terapia, de la fase de la terapia, y similares.

45 La dosificación terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica depende de la especie del sujeto, del peso corporal, la edad y la condición individual, del trastorno o de la enfermedad, o de la gravedad de la misma, que sea tratada. Un médico, clínico, o veterinario de una experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los ingredientes activos necesarios para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

50 Las propiedades de dosificación anteriormente citadas se pueden demostrar en pruebas *in vitro* e *in vivo* utilizando convenientemente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. El compuesto de la presente invención se puede aplicar *in vitro* en la forma de soluciones, por ejemplo, soluciones acuosas, e *in vivo* ya sea enteralmente, parenteralmente, de una manera conveniente subcutáneamente, por ejemplo, como una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro*

5 puede estar en el intervalo de concentraciones de entre aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente efectiva *in vivo*, dependiendo de la vía de administración, puede estar en el intervalo de entre aproximadamente 0.01 y 500 miligramos/kilogramo, o de entre aproximadamente 0.01 y 100 miligramos/kilogramo, o de entre aproximadamente 0.01 y 1 miligramo/kilogramo, o de entre aproximadamente 0.01 y 0.1 miligramo/kilogramo.

La actividad del compuesto de la presente invención se puede evaluar mediante el siguiente método *in vitro*. Se describen métodos *in vivo* adicionales en los Ejemplos.

Prueba 1: Ensayo funcional celular *in vitro* utilizando células CHO y células de músculo esquelético

10 cAMP: Las células de músculo esquelético humanas (skMC) se obtuvieron en Cambrex (catálogo número CC-2561), y se cultivaron en un Medio Basal Esquelético (SKBM) obtenido en Cambrex (catálogo número #CC-3161). Las respuestas de cAMP se midieron utilizando el kit de Ensayo-HTRF a granel dinámico 2 de cAMP obtenido en Cisbio o Cis Competitive Intelligence (catálogo número 62AM4PEC). Las células skMC se cultivaron durante 1 día en un medio de cultivo celular SKBM complementado con suero fetal de ternera (FCS) al 20 % en placas de 384 pozos a 37°C, con CO₂ al 5 %. Al día siguiente, las células se lavaron dos veces con 50 microlitros de suero regulado con fosfato (PBS), y se diferenciaron durante 3 días en SKBM sin suero en la presencia de SB431542 1 µM, un Inhibidor de ALK 4/5 obtenido en Sigma (catálogo número S4317) a 37°C, con CO₂ al 7.5 %. En el día 4, se removió el SKBM sin suero complementado con SB431542 1 µM, las células se lavaron dos veces con 50 microlitros de suero regulado con fosfato (PBS), y se diferenciaron adicionalmente durante 1 día en SKBM sin suero y sin SB431542 (50 microlitros por pozo) a 37°C, con CO₂ al 7.5 %. se aislaron células skMC y cardiomiocitos de rata a partir de ratas neonatales de una forma convencional, y se trataron como se describe anteriormente. Las células de ovario de hámster chino (CHO) establemente transfectadas con adreno-receptores-β humanos (β1 o β2) se produjeron en Novartis Institutes for BioMedical Research, y se cultivaron como se describe anteriormente (J Pharmacol Exp Ther. mayo de 2006; 317(2): 762-70).

25 Los compuestos se hicieron en regulador de estimulación a 2 x la concentración requerida, y se prepararon diluciones en serie 1:10 en regulador de estimulación, en una placa de 96 pozos (forma en U). El control de sulfóxido de dimetilo (DMSO) se normalizó al contenido de sulfóxido de dimetilo (DMSO) de la dilución más alta, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.1 % (2 veces) para una concentración de 10^{-5} M (2 veces) de la dilución del primer compuesto. El ensayo se llevó a cabo en placas de 384 pozos, en un volumen de estimulación de 20 microlitros, y un volumen final del ensayo de 40 microlitros por pozo. En el día del experimento, se removió el medio de cultivo a partir de las placas de cultivo celular de 384 pozos invirtiendo y sacudiendo la placa sobre una pila de papel de 2 a 3 veces. Primero se agregaron 10 microlitros del medio de cultivo fresco por pozo a la placa de 384 pozos. Después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente, se agregaron 10 microlitros por pozo de las diluciones de los compuestos de procesamiento a las células, y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Durante este tiempo, se prepararon las soluciones de procesamiento de los reactivos mediante la dilución de las soluciones de suministro del criptato anti-cAMP y el cAMP-D2 a 1:20 en regulador de lisis, suministrados con el kit. Después de 30 minutos de incubación del compuesto, se agregaron en secuencia 10 microlitros de cAMP-D2 y 10 microlitros de criptato anti-cAMP a las placas de ensayo. Después de un tiempo de incubación de 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad, se llevó a cabo la medición con el PheraStar (Longitud de onda de excitación: 337 nanómetros, Longitudes de onda de emisión: 620 y 665 nanómetros).

40 Ca²⁺: La línea celular CHO-K1 Alpha1A adrenérgica humana se adquirió en Perkin Elmer (línea celular GPCR recombinante estable, catálogo número ES-036-C, Lote número M1W-C1, Boston, Massachusetts, EUA). Un día antes del experimento, las células Alfa1A congeladas (10 millones por mililitro, y por frasco) se descongelaron en un baño de agua a 37°C. La suspensión celular se centrifugó durante 5 minutos a 1,000 revoluciones por minuto, y el aglomerado celular se volvió a suspender en el medio de cultivo celular. Las células se sembraron en placas negras de 384 pozos con fondo transparente a una densidad de 8,000 células por pozo en 50 microlitros del medio de cultivo celular. Las placas se incubaron durante aproximadamente 24 horas a 37°C, con CO₂ al 5 %. El día del experimento, el medio se removió utilizando una lavadora de células (TECAN PW3). Después del lavado final, habían quedado 10 microlitros en los pozos. Se agregaron 40 microlitros de regulador de carga, y las células se cargaron durante 60 minutos a 37°C, con CO₂ al 5 %. Las placas se lavaron con TECAN PW3 con los 20 microlitros de regulador de ensayo que quedaron, y se incubaron durante cuando menos 20 minutos a temperatura ambiente antes llevar a cabo el experimento FLIPR. Los compuestos se caracterizaron entonces en el modo de agonista y/o antagonista. Para la validación del ensayo, se utilizó el mismo protocolo con las células frescas. En este caso, las células se desprendieron a partir de un matraz de 150 cm² utilizando 3 mililitros de Tripsina-EDTA, se centrifugaron, y se volvieron a suspender en el medio de cultivo celular.

55 Las células se estimularon mediante la adición de 5 microlitros de los compuestos (5 veces), utilizando la cabeza del FLIPR. Los compuestos que actúan como agonistas inducen un aumento transitorio del calcio intracelular. Esto se registró en el sistema FLIPR. Primero se registró una medición de la línea base de la señal cada segundo durante 2 minutos antes de la inyección de los compuestos. Las mediciones de calcio se llevaron a cabo mediante la

5 excitación de las células con el dispositivo de láser de ion de argón a 488 nanómetros a una potencia del dispositivo de láser de 0.6 W y registrando la señal de fluorescencia con una cámara CCD (apertura de 0.4 segundos) durante 2 minutos. Los controles bajos se determinaron (células no estimuladas) con la adición de 5 microlitros de regulador de ensayo. Los controles altos se determinaron con la adición de 5 microlitros de un agonista conocido en una alta concentración EC₁₀₀ (A-61603 a 1 µM), y también se agregó un compuesto agonista de referencia a cada placa.

El compuesto de la invención exhibe eficacia en el ensayo de prueba 1 con una EC₅₀ de menos de 10 nM. La actividad específica se muestra en el Ejemplo 6.

En los Ejemplos 7 a 11 se describen otras actividades específicas del compuesto de la invención.

10 Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no deben interpretarse como limitaciones sobre la misma. Las temperaturas se dan en grados Celsius. Si no se menciona de otra manera, todas las evaporaciones se llevan a cabo bajo presión reducida, típicamente entre aproximadamente 15 mmHg y 100 mmHg (= de 20 a 133 mbar). La estructura de los productos finales, de los intermediarios, y de los materiales de partida, se confirma mediante los métodos analíticos convencionales, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, MS, IR, RMN. Las abreviaturas empleadas son aquéllas convencionales en la materia.

15 Todos los materiales de partida, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes, y catalizadores utilizados para sintetizar el compuesto de la presente invención son cualesquiera de aquéllos comercialmente disponibles, o se pueden producir mediante los métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto ordinario en este campo (Houben-Weyl 4^a Edición 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, Volumen 21). Además, el compuesto de la presente invención se puede producir mediante los métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto ordinario en este campo, como se muestra en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Lista de Abreviaturas:

	1M	uno molar
	APCI	ionización química a presión atmosférica
25	aq	acuoso
	AR	adreno-receptor
	atm	atmósfera
	br	amplio
	cm	centímetros
30	d	doblete
	dd	doble doblete
	ddd	doble doble doblete
	(DHDQ) ₂ PHAL	1,4-ftalazin-di-il-diéter de hidro-quinidina
	DMAC	dimetil-acetamida
35	DMSO	sulfóxido de dimetilo
	DSC	calorimetría de exploración diferencial
	ee	exceso enantiomérico
	equiv	equivalentes

ES 2 637 802 T3

	ES	aspersión de electrones
	g	gramos
	h	horas
	HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
5	HRMS	espectroscopía de masas de alta resolución
	m	multiplete
	MC	metil-celulosa
	mbar	milibar
	MeOH	metanol
10	min	minutos
	ml	mililitros
	MS	espectroscopía de masas
	MTBE	metil-terbutil-éter
	nm	nanómetros
15	RMN	resonancia magnética nuclear
	RT	tiempo de retención
	r.t.	temperatura ambiente
	s	singulete
	sat.	saturado
20	sept	septeto
	t	tripleto
	TFA	ácido trifluoro-acético
	µm	micras
	w/v	peso/volumen
25	XRPD	difracción en polvo de rayos-X

30 A menos que se indique de otra manera, los espectros de HPLC/MS se registraron en un Agilent Serie 1100 LC / Cuadrupolo Agilent MS 6210. Se utilizó una columna Waters Symmetry C8 (3.5 micras; 2.1 x 50 milímetros) (WAT200624). Se aplicó el siguiente método de gradiente (% = % por volumen): A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 % / B = acetonitrilo + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 %; de 0.0 a 2.0 minutos con 90A:10B – 5A:95B; de 2.0 a 3.0 minutos con 5A:95B; de 3.0 a 3.3 minutos con 5A:95B – 90A:10B; flujo de 1.0 mililitro/minuto; temperatura de la columna de 50°C. Todos los compuestos se ionizaron en el modo APCI.

Los espectros de ¹H-RMN se registraron en una máquina Varian Mercury (400 MHz) o Bruker Advance (600 MHz).

La rotación óptica se midió en un Polarímetro Perkin Elmer 341.

Condiciones de LCMS para los Ejemplos 2b, 2c, 2d, 2e, 2g:

- 5 Estación de espectros de masas: LC/MS con Cuadrupolo Agilent 6130 con HPLC Agilent 1200; Columna: Agilent Zorbax SB-C18 (resolución rápida), 2.1 x 30milímetros, 3.5 micras; Fases móviles: B: ácido fórmico al 0.1 % en agua; C: ácido fórmico al 0.1 % en MeCN; de 1.0 minuto a 6.0 minutos, del 95 % de B al 5 % de B, y del 5 % de C al 95 % de C; de 6.0 minutos a 9.0 minutos, 5 % de B y 95 % de C; tiempo posterior: 2.0 minutos; velocidad de flujo: 0.8 mililitros / minuto; temperatura de la columna: 30°C; detección UV: 210 nanómetros y 254 nanómetros; MS exploración positiva y negativa: 80-1000; Método de ionización: API-ES.

Condiciones de HRMS para el Ejemplo 2f:

- 10 Instrumento: Waters Acquity UPLC acoplado con Synapt Q-TOF MS; Columna: Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1 x 50 milímetros, 1.7 micras; Fase móvil: A: ácido fórmico al 0.1 % en agua, B: ácido fórmico al 0.1 % en acetonitrilo; Temperatura de la columna: a temperatura ambiente; detección UV: exploración de 190 nanómetros a 400 nanómetros; Velocidad de flujo: 0.5 mililitros / minuto;

Condición de gradiente:

Tiempo [min.]	Fase B [%]	
0	5	
1	5	Inicio de adquisición
9	95	
11	95	Final de adquisición
11.10	5	
14	5	Siguiente inyección
Método de ionización: ESI+; MS rango de exploración: 100-1,000 m/z.		

- 15 Intermediario A: 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina

a) 4-(2-metil-2-nitro-propil)-fenol

- 20 Una mezcla de 4-(hidroxi-metil)-fenol (20 gramos), KOtBu (27.1 gramos), y DMAC (200 mililitros) se agitó con un agitador magnético. Se agregó lentamente 2-nitro-propano (21.5 gramos), dentro de 20 minutos. La mezcla se calentó a 140°C durante 5 horas antes de enfriarse hasta la temperatura ambiente. La mezcla se agregó lentamente para enfriar la solución acuosa de HCl (3.0 %, 600 mililitros), entonces se extrajo con metil-terbutil-éter (MTBE) (300 mililitros, 1 vez, 200 mililitros, 1 vez). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (300 mililitros, 2 veces), y una solución acuosa saturada de NaCl (50 mililitros, 1 vez), entonces se secaron con Na₂SO₄ anhidro. La mezcla se filtró y se concentró al vacío, para dar un sólido amarillo claro (28.5 gramos), el cual se utilizó para el siguiente paso sin mayor purificación.

- 25 [M-1]⁺ =194.2; RT = 5.3 minutos.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) ppm 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.75 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.11 (s, 2H), 1.56 (s, 6H).

b) 1-butoxi-4-(2-metil-2-nitro-propil)-benceno

5 La mezcla de 4-(2-metil-2-nitro-propil)-fenol (20.4 gramos), 1-bromo-butano (28.7 gramos), DMAC (200 mililitros), K₂CO₃ (21.6 gramos), y yoduro de tetrabutil-amonio (38.7 gramos), se agitó con un agitador magnético, y se calentó a 85°C durante 17 horas. La mezcla se enfrió hasta 0-10°C y se agregó agua (700 mililitros). La mezcla se extrajo con metil-terbutil-éter (MTBE) (300 mililitros, 1 vez, 200 mililitros, 1 vez). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 mililitros, 2 veces), y entonces se concentraron al vacío, para dar un aceite color rojo-café (27.8 gramos), el cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

10 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) ppm 7.0 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.81 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.93 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.12 (s, 2H), 1.74 (m, 2H), 1.56 (s, 6H), 1.48 (m, 2H), 0.97 (t, 3H).

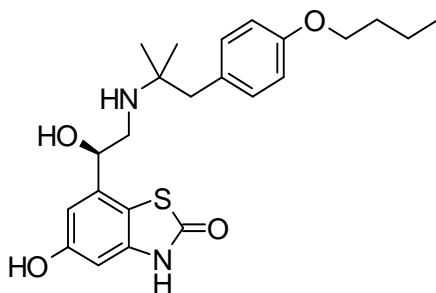
c) 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina

15 En un reactor de hidrogenación (1 litro), se agregó una solución de 1-butoxi-4-(2-metil-2-nitro-propil) benceno (27.8 gramos) en AcOH (270 mililitros), seguida por Níquel de Raney húmedo (7.0 gramos). La mezcla se purgó con H₂ por 3 veces, entonces se calentó hasta 60°C, y se mantuvo agitándose bajo 5.0 atmósferas durante 16 horas. La mezcla se filtró, y el filtrado total se concentró al vacío. El residuo resultante se diluyó con agua (150 mililitros)/heptano normal (80 mililitros), la capa acuosa se lavó con heptano normal (80 mililitros) nuevamente. La capa acuosa se ajustó con NaOH (aproximadamente 20 %), a un pH de aproximadamente 11, entonces se extrajo con metil-terbutil-éter (MTBE) (100 mililitros, 1 vez), y EtOAc (150 mililitros, 2 veces). La capa del medio se desechó. 20 Todas las capas superiores se combinaron y se lavaron con NaHCO₃ saturado (100 mililitros), y NaCl saturado (100 mililitros) antes de secarse con Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, la mezcla se concentró. El residuo resultante se agitó, y se agregó una solución de HCl en alcohol isopropílico (2M, 40 mililitros). La pasta acuosa se calentó a 60°C, y se agregó heptano normal (120 mililitros). La mezcla se enfrió hasta 20°C, entonces se filtró, la torta se lavó con algo de heptano normal. El sólido blanco se secó en aire durante 2 días para dar 10 gramos de la sal pura de HCl del producto. Rendimiento: 35.2 %.

25 [MH]⁺ = 222.2; RT = 5.0 minutos.

¹H-RMN (400 MHz, d-DMSO) ppm 8.13 (s, 3H), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.93 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.80 (s, 2H), 1.67 (m, 2H), 1.42 (m, 2H), 1.18 (s, 6H), 0.92 (t, 3H).

Ejemplo 1: (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona



30 a) 1-terbutoxi-3-fluoro-5-isotiocianato-benceno

35 Se agregan por goteo tiofosgeno (33.6 gramos) en CHCl₃ (250 mililitros), y K₂CO₃ (64.7 gramos) en H₂O (450 mililitros), por separado y de una manera simultánea, a una solución de 3-terbutoxi-5-fluoro-fenil-amina (42.9 gramos) en CHCl₃ (350 mililitros) a 0°C. La mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente durante la noche. Los materiales orgánicos se separan y se lavan con agua (3 veces), salmuera (1 vez), se secan sobre MgSO₄, se filtran, y el solvente se remueve al vacío. Se obtiene el compuesto del título mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea (sílice, eluyente de dicloro-metano (DCM) / iso-hexano, 1:3).

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz); 6.70 (m, 3H), 1.40 (s, 9H).

b) O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluoro-fenil)-tiocarbámico

El 1-terbutoxi-3-fluoro-5-isotiocianato-benceno (24.0 gramos) y trietil-amina (10.9 gramos) se disuelven en

isopropanol (150 mili-litros). La mezcla de reacción se pone a reflujo durante 18 horas, y el solvente se remueve al vacío. El producto crudo se disuelve en hexano : dietil-éter (19:1). El dietil-éter se remueve al vacío, y la solución se enfría a 0°C durante 3 horas. La solución se filtra, para dar el compuesto del título.

5 ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz); 8.10 (br s, 1H), 6.65 (br s, 2H), 6.45 (ddd, 1H) 5.60 (septeto, 1H), 1.35 (d, 6H), 1.30 (s, 9H).

c) 5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-carbaldehído

10 El O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluoro-fenil)-tiocarbámico (2.2 gramos) se disuelve en tetrahidrofurano (THF) seco (20 mililitros). La mezcla de reacción se enfría a -78°C, y se agrega terbutil-litio (15.2 mililitros, de 1.5 M solución) durante 20 minutos. La mezcla de reacción entonces se calienta a -10°C durante 75 minutos. La mezcla de reacción entonces se vuelve a enfriar hasta -78°C, se agrega N,N-dimetil-formamida (1.5 gramos), y la mezcla de reacción se calienta lentamente a temperatura ambiente, y entonces se agita a -10°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se apaga con HCl (acuoso) (5 mililitros, de una solución 2 M), los materiales orgánicos se separan entre acetato de etilo/agua, y se remueven al vacío. Se obtiene el compuesto del título mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea (sílice, eluyente: acetato de etilo/isohehexano, 1:9).

15 MS (ES+) m/e 294 (MH⁺).

d) 5-terbutoxi-2-isopropoxi-7-vinil-benzotiazol

20 El Ph₃PMe.Br (5.0 gramos) se disuelve en tetrahidrofurano (THF) seco (100 mililitros), bajo argón. Se agrega n-butillitio (8.8 mililitros, de una solución 1.6 M) a temperatura ambiente durante 10 minutos, y la mezcla de reacción se agita durante 30 minutos adicionales. Se agrega por goteo una solución de 5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-carbaldehído (1.25 gramos) en dicloro-metano (DCM) (40 mililitros) a la mezcla de reacción, y la mezcla de reacción se agita durante 4.5 horas a temperatura ambiente. El solvente se remueve al vacío, se vuelve a disolver en acetato de etilo, se lava con agua (3 veces), salmuera (1 vez), se seca sobre MgSO₄, se filtra, y el solvente se remueve al vacío. Se obtiene el compuesto del título mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea (sílice, eluyente de acetato de etilo / isohehexano, 1:9).

25 MS (ES+) m/e 292 (MH⁺).

e) (R)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-etano-1,2-diol

30 Se disuelven K₃Fe(CN)₆ (1.2 gramos), K₂CO₃ (0.5 gramos), (DHQD)₂PHAl (19 miligramos) en terbutanol/agua (15 mililitros, mezcla de 1:1), bajo argón, y se agitan durante 15 minutos. La mezcla de reacción se enfría a 0°C, y se agrega OSO₄ (3.1 miligramos), seguido por 5-terbutoxi-2-isopropoxi-7-vinil-benzotiazol (0.35 gramos). La mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apaga con meta-bisulfato de sodio (1 gramo), y se agita durante 1.5 horas. Se agrega acetato de etilo, los materiales orgánicos se separan, se lavan con agua (2 veces), salmuera (1 vez), se secan sobre MgSO₄, se filtran, y el solvente se remueve al vacío. Se obtiene el compuesto del título mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea (sílice, eluyente de acetato de etilo/isohehexano, 2:5).

35 MS (ES+) m/e 326 (MH⁺).

f) 4-metil-bencen-sulfonato de (R)-2-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-hidroxi-etilo

40 En un matraz de fondo redondo, de 3 cuellos, de 500 mililitros, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de (R)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-etano-1,2-diol (20 gramos, 59.05 milimoles) en piridina (240 mililitros), y tamices moleculares de 4 Angstroms (5 gramos). Esto fue seguido por la adición por goteo de una solución de cloruro de ácido toluen-sulfónico (cloruro de tosilo) (15.3 gramos, 79.73 milimoles) en piridina (60 mililitros) con agitación a 0°C. La solución resultante se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. La reacción entonces se apagó mediante la adición de 1,000 mililitros de cloruro de hidrógeno 1M. La solución resultante se extrajo con 2 x 300 mililitros de acetato de etilo, y las capas orgánicas se combinaron. La fase orgánica se lavó con 1 x 500 mililitros de cloruro de hidrógeno 1M, 1 x 500 mililitros de bicarbonato de sodio al 10 % y 300 mililitros de salmuera. La mezcla se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentró al vacío. El residuo se aplicó sobre una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (1:10). Esto dio como resultado 26 gramos (87 %) del 4-metil-bencen-sulfonato de (R)-2-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-hidroxi-etilo como un aceite amarillo.

LC/MS R_T = 2.47 minutos; (m/z): 480 [M+H]⁺.

$^1\text{H-RMN}$: (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 7.57 (d, 2H); 7.36 (d, 2H); 7.17 (d, 1H); 6.79 (d, 1H); 6.32 (d, 1H); 5.37-5.26 (m, 1H); 4.97-4.90 (m, 1H); 4.12-4.00 (m, 2H); 2.40 (s, 3H); 1.45-1.38 (m, 6H); 1.32 (s, 9H).

g) (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol

5 En un matraz de fondo redondo, de 4 cuellos, de 1,000 mililitros, se colocó una solución del 4-metil-bencen-sulfonato de (*R*)-2-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-hidroxi-etilo (26 gramos, 51.55 milimoles, 1.00 equivalentes) en tolueno (320 mili-litros), y 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina (intermediario A) (22 gramos, 99.47 milimoles, 1.93 equivalentes). La solución se agitó durante 24 horas a 90°C en un baño de aceite. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se aplicó sobre una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (1:8).
10 Esto dio como resultado 16 gramos (58 %) del (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol como un aceite amarillo claro.

LC/MS: $R_T = 2.24$ minutos (m/z): 529 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$^1\text{H-RMN}$: (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 7.12 (s, 1H); 6.83 (d, 2H); 6.77 (s, 1H); 6.63 (d, 2H); 5.80 (br. s, 1H); 5.38-5.30 (m, 1H); 4.70-4.66 (m, 1H); 3.90 (t, 2H); 2.81-2.61 (m, 2H); 2.50 a 2.39 (m, 2H); 1.71-1.62 (m, 2H); 1.47-1.41 (m, 2H); 1.41 (d, 6H); 1.22 (s, 9H); 0.91 (q, 3H); 0.88 (s, 3H); 0.83 (s, 3H).

15 h) (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Una solución del (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol (3.5 gramos) en ácido fórmico (40 mililitros), se agitó durante 68 horas a temperatura ambiente. Se agregaron 50 mililitros de agua, y la mezcla resultante se evaporó a sequedad (evaporador giratorio, 15 mbar, 40°C), para dar 3.8 gramos del producto crudo. Este material se dividió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 mililitros), y acetato de etilo (50 mililitros), con el objeto de remover el ácido fórmico. La capa acuosa se extrajo 3 veces con acetato de etilo (30 mililitros cada una). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron, para dar 3 gramos de la base libre cruda. Este material se pasó por cromatografía por evaporación instantánea (gel de sílice; gradiente del 0 al 60 % de metanol en dicloro-metano (DCM)). Las fracciones puras se recolectaron y se evaporaron a sequedad, para dar 1.74 gramos de un semisólido amorfo.
20

25 Este material se sometió a cromatografía de preparación quiral [columna: Chiralpak IC (20 micras) 7.65 x 37.5 centímetros; eluyente: heptano normal/dicloro-metano (DCM)/etanol/dietil-amina, 50:30:20 (+0.05 dietil-amina); velocidad de flujo = 70 mililitros / minuto; concentración: 2.5 gramos / 50 mililitros de eluyente; detección: UV, 220 nanómetros], para dar el enantiómero puro (100 % de exceso enantiomérico (ee)).

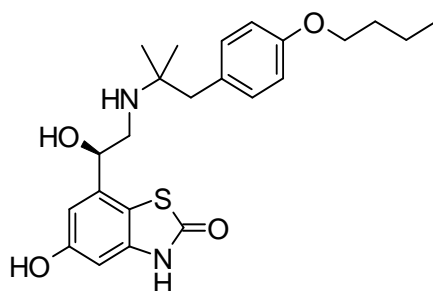
30 Este material se disolvió en 45 mililitros de acetonitrilo a 60°C. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 18 horas, después de lo cual, se presentó la precipitación. La mezcla se diluyó con 5 mililitros de acetonitrilo frío (4°C), y se filtró a través de un embudo Buchner. La torta del filtro se lavó dos veces con acetonitrilo frío. Entonces el sólido húmedo se recolectó y se secó al vacío (0.2 mbar), a temperatura ambiente durante la noche, para dar 1.42 gramos de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona como un polvo incoloro.

35 LC/MS: $R_T = 1.81$ minutos (m/z): 431 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$^1\text{H-RMN}$: (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) 11.5 (br. s, 1H); 9.57 (br. s, 1H); 6.99 (d, 2H); 6.76 (d, 2H); 6.52 (s, 1H); 6.47 (s, 1H); 5.63 (br. s, 1H); 4.53-4.48 (m, 1H); 3.90 (t, 2H); 2.74-2.63 (m, 2H); 2.54-2.45 (m, 2H); 1.71-1.62 (m, 2H); 1.49-1.40 (m, 2H); 0.93 (q, 3H); 0.89 (s, 6H).

Rotación óptica: $[\alpha]_D^{22} = -43^\circ$ ($c = 1.0$ gramo/100 mililitros de MeOH).

40 **Ejemplo 2:** Ruta alternativa para la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona



a) 1-terbutoxi-3-fluoro-5-isotiocianato-benceno

El 1,1'-tiocarbonil-di-imidazol (423 gramos, 2.37 moles) se disolvió en dicloro-metano (DCM) (3200 mililitros). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de N₂ mientras se agregaba lentamente una solución de 3-terbutoxi-5-fluoro-anilina (435 gramos, 2.37 moles) en dicloro-metano (DCM) (800 mililitros) dentro de 2 horas. Entonces la mezcla se mantuvo agitando a 20°C durante 16 horas. La mezcla se diluyó con agua (3000 mililitros). La fase de dicloro-metano (DCM) separada se lavó nuevamente con agua (3,000 mililitros) antes de secarse con Na₂SO₄ anhidro durante 2 horas. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para remover el solvente, para dar el 1-terbutoxi-3-fluoro-5-isotiocianato-benceno (499 gramos).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 6.63-6.68 (m, 3 H), 1.37 (s, 9H).

b) O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluoro-fenil)-tiocarbámico

A una solución del 1-terbutoxi-3-fluoro-5-isotiocianato-benceno (460 gramos, 2.04 moles) en alcohol isopropílico anhidro (3250 mililitros), se le agregó trietil-amina (315 gramos, 3.06 moles). La mezcla se calentó a reflujo bajo una atmósfera de N₂ durante 16 horas, y la temperatura se enfrió hasta 40-50°C. Después de la concentración, el residuo oscuro resultante se diluyó con heptano normal (1,000 mililitros), y se calentó a 60°C. La mezcla se enfrió lentamente a 25°C, al mismo tiempo que se agregaba la siembra. Se observó una pasta acuosa y se agitó a 25°C durante 16 horas antes de enfriarse lentamente hasta 0-10°C dentro de 2 horas. Después de la filtración y del lavado con heptano normal (200 mililitros), el sólido recolectado se secó en un horno al vacío a 40-45°C durante 18 horas, para dar el O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluoro-fenil)-tiocarbámico (453.1 gramos).

LCMS: [M+H]⁺ = 286.1; RT = 7.2 minutos.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.18 (s, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.51 (dt, J = 10.2 Hz, 1H), 5.66 (hepteto, J = 6.3 Hz, 1H), 1.42 (d, J = 6.2 Hz, 6H), 1.37 (s, 9H).

c) 1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-2-cloro-etanona

Bajo una atmósfera de nitrógeno, se agregó por goteo una solución de terbutil-litio (481 mililitros, 737.6 milimoles, 1.6 M) a una solución del O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluoro-fenil)-tiocarbámico (200 gramos, 700.83 milimoles) en 2-Me-THF (1,600 mililitros), a una temperatura por debajo de -65°C. La temperatura de la reacción se calentó a -35°C, y se agregó lentamente una segunda porción de terbutil-litio (388 mililitros, 737.6 milimoles, 1.9 M), mientras que se mantenía la temperatura por debajo de -35°C. La mezcla de reacción se agitó luego a esta temperatura durante 3 horas, y se enfrió hasta -70°C. Se agregó una solución de N-metil-N-metoxi-cloro-acetamida (96.4 gramos, 700.83 milimoles) en 2-MeTHF (300 mililitros) a la mezcla de reacción, mientras que se mantenía la temperatura por debajo de -70°C. La mezcla se calentó entonces a -30°C, y se agitó durante 45 minutos. La mezcla de reacción fría se apagó mediante la adición por goteo de HCl al 30 % en isopropanol (240 gramos), seguida por la adición de 1,500 mililitros de agua. La capa orgánica se lavó en secuencia con 1,000 mililitros de agua, 1,500 mililitros de NaHCO₃ acuoso saturado, y 1,500 mililitros de salmuera. Después de la concentración, el residuo color café claro resultante se agregó a isopropanol (135 mililitros). La mezcla se calentó a 50°C, y se enfrió lentamente hasta 25°C. Se agregó por goteo heptano normal (135 mililitros) a la solución, y la mezcla se agitó durante la noche. La pasta acuosa se filtró, y la torta del filtro se lavó con heptano normal (40 mililitros), seguido por otra porción de heptano normal (20 mililitros). La torta se secó al vacío, para proporcionar la 1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-2-cloro-etanona como un polvo grisáceo (42.8 gramos, 17.9 % de rendimiento).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7.60 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.40 (hepteto, J = 6.3 Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 1.47 (d, J = 6.3 Hz, 6H), 1.40 (s, 9H).

LCMS: [M+H]⁺ = 342.1, RT = 7.29 minutos.

d) (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-2-cloro-etanol

Una suspensión de la 1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-cloro-etanona (70 gramos, 204.8 milimoles), y RuCl(p-cimeno)[(S,S)-Ts-DPEN] (1.954 gramos, 3.07 milimoles) en metanol (MeOH)/N,N-dimetil-formamida (DMF) (1,330 mililitros/70 mililitros) se desgasificó y se rellenó con N₂ tres veces. Se agregó lentamente una mezcla preformada desgasificada de ácido fórmico (28.3 gramos) en Et₃N (124.3 gramos), mientras que se mantenía la temperatura interna entre 15°C y 20°C. La suspensión amarilla resultante se calentó hasta 30°C. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta 25°C, entonces se agregó agua (750 mililitros) a la mezcla de reacción, seguida por la adición de ácido acético (56 mililitros) en una porción. La mezcla se concentró, y entonces se diluyó con el *tert*-butil-metil-éter (TBME) (1,000 mililitros). La fase acuosa se separó y se extrajo con el *tert*-butil-metil-éter (TBME) (1,000 mililitros). La fase orgánica combinada se lavó en secuencia con agua y salmuera, y entonces se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío, para dar el (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-2-cloro-etanol (72 gramos).

LCMS (método A): [M+H]⁺ = 343.1, RT = 5.67 minutos.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7.29 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.37 (hepteto, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.96 (m, 1H), 3.74 (m, 2H), 3.01 (s, 1H), 1.46 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H), 1.36 (s, 9H).

e) (*R*)-5-terbutoxi-2-isopropoxi-7-oxiranil-benzotiazol

A una solución del (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-cloro-etanol (140 gramos, 407.1 milimoles) en *tert*-butil-metil-éter (TBME) (420 mililitros), se le agregó por goteo una solución acuosa de NaOH (2M, 420 mililitros), seguida por yoduro de tetrabutil-amonio (7.52 gramos, 20.36 milimoles) agregado en una porción. Después de 4 horas a 26°C, se agregaron 400 mililitros de *tert*-butil-metil-éter (TBME), y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con el *tert*-butil-metil-éter (TBME) (400 mililitros). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (400 mililitros), y salmuera (400 mililitros), para dar el (*R*)-5-terbutoxi-2-isopropoxi-7-oxiranil-benzotiazol (122 gramos).

LCMS: [M+H]⁺ = 308.0, RT = 6.80 minutos.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) ppm 7.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.38 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.15 (dd, *J* = 4.3, 5.5 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J* = 4.3, 5.5 Hz, 1H), 1.45 (d, *J* = Hz, 6H), 1.37 (s, 9H).

f) (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol

El (*R*)-5-terbutoxi-2-isopropoxi-7-oxiranil-benzotiazol (145 gramos, 471.7 milimoles), y la 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina (114.8 gramos, 518.9 milimoles) se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (850 mililitros). La mezcla de reacción se calentó a 80°C, y se agitó durante 27 horas. La mezcla entonces se enfrió hasta 25°C y, se agregó a una mezcla agitada de agua (1,500 mililitros), y *tert*-butil-metil-éter (TBME) (1,500 mililitros). La capa acuosa se separó y se extrajo con el *tert*-butil-metil-éter (TBME) (1,000 mililitros). Las capas orgánicas combinadas se lavaron en secuencia con agua (1,500 mililitros), y salmuera (1,000 mililitros), y se secaron con Na₂SO₄ anhidro. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (eluyendo con EtOAc al 10 % en heptano normal hasta EtOAc al 33 % en heptano normal). Se obtuvo el producto sólido de (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol (140 gramos) como un sólido grisáceo.

HRMS: [M+1] 529.2996.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7.26 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.78-6.80 (m, 3H), 5.39 (m, 1H), 4.65 (dd, *J* = 3.8, 8.8 Hz, 1H), 3.83 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.96 (dd, *J* = 3.8, 12 Hz, 1H), 2.74 (dd, *J* = 8.8, 12 Hz, 1H), 2.60 (dd, *J* = 13.6, 17.6 Hz, 2H), 1.72-1.79 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.46 (d, *J* = 2.0 Hz, 3H), 1.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 3H), 1.35 (s, 9H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.98 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

g) (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Al (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol (7.5 gramos) en iso-propanol (30 mililitros), y agua (25 mililitros), se le agregó una solución acuosa de HCl 1M (43 mililitros). La mezcla de reacción entonces se calentó a 60°C, y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla se enfrió hasta 50°C, y entonces se agregó lentamente una solución acuosa de NaOH 2M (18 mililitros), para ajustar el pH entre 8.2 y 8.4. La mezcla de reacción entonces se enfrió hasta 30°C, seguido por extracción con el *tert*-butil-metil-éter (TBME) (la primera vez con 40 mililitros, la segunda vez con 25 mililitros). Las dos capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (38 mililitros por dos veces) antes de secarse con Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró, y entonces se disolvió en MeCN (145 mililitros). La solución se trató con carbón activado (0.6

gramos), y se calentó a 60°C. Después de una segunda filtración, la torta se lavó con MeCN (10 mililitros por dos veces), y el filtrado se cristalizó a 60°C para obtener la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona (3.8 gramos). Exceso enantiomérico (e.e.) = 97.6 %.

LCMS (método A): [M+H]⁺ = 431.2.

- 5 ¹H RMN (400 MHz, DMSO- *d*₆): 9.5 (br. s, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.57 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.33 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.30 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.43 (br. s, 1H), 3.69 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.58-2.59 (m, 2H), 2.24-2.31 (m, 2H), 1.41-1.48 (m, 2H), 1.15-1.25 (m, 2H), 0.78 (s, 6H), 0.70 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

Ejemplo 3: Sal de acetato de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

- 10 500 miligramos (1.161 milimoles) de la base libre de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se suspendieron en 10.0 mililitros de acetonitrilo y 0.25 mililitros de agua, en un matraz de cuatro cuellos de 50 mililitros, y se agitaron con espas a temperatura ambiente. La suspensión se calentó a una temperatura interna de 50°C (temperatura de la camisa de 75°C), y se agregaron 72 miligramos de ácido acético (1.161 milimoles) (se formó una solución amarilla transparente). La solución se enfrió durante 30 minutos a temperatura ambiente, y se agregaron 0.15 mililitros de agua.

- La solución entonces se sembró con acetato de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, y se agitó durante la noche (16 horas), a temperatura ambiente. La suspensión entonces se filtró a temperatura ambiente a través de un filtro de vidrio, y se lavó tres veces con 1 mililitro de acetonitrilo. Se secaron 510 miligramos de la torta del filtro húmeda en un horno de secado durante la noche (16 horas) a temperatura ambiente a sequedad. Rendimiento: 508 miligramos de un polvo blanco (89.1 %)

Preparación de la siembra de acetato de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

- 25 57.0 miligramos (0.132 milimoles) de la base libre de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y 8.03 miligramos (0.132 milimoles) de ácido acético se disolvieron en 1.0 mililitro de acetonitrilo y 0.05 mililitros de agua. La solución se agitó a temperatura ambiente con un agitador magnético. La precipitación tuvo lugar durante la noche. La solución entonces se filtró a temperatura ambiente a través de un filtro de vidrio, y se lavó tres veces con 0.5 mililitros de acetonitrilo. La torta del filtro húmeda se secó en un horno de secado durante la noche (16 horas) a temperatura ambiente a sequedad. Rendimiento: 57 miligramos de un polvo blanco

- 30 **Ejemplo 3a:** Procedimiento alternativo para la formación de la sal de acetato de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

- El (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-etanol (1 equivalente) se suspendió en isopropanol. De 50°C a 60°C, se agregó una solución acuosa de ácido clorhídrico 1M (3 equivalentes), dentro de aproximadamente 30 a 60 minutos. Después de completarse la reacción (aproximadamente 2.5 horas a 60°C), la solución se enfrió hasta 20°C, y se agregó gradualmente hidróxido de sodio 2M (3 equivalentes) a esta temperatura. Después de la adición completa, la base libre de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona emulsionada se extrajo en acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con agua. La capa orgánica se trató con carbón activado, y se filtró utilizando celulosa microcristalina como un auxiliar de filtro. La torta del filtro se lavó con acetato de etilo. El filtrado, que contenía la base libre de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, se concentró cuidadosamente hasta obtener un volumen residual definido mediante destilación a una temperatura de la camisa de 55°C bajo presión reducida. Entonces se agregó acetato de isopropilo, y se removió parcialmente mediante destilación hasta obtener un volumen residual definido a una temperatura de la camisa de 55°C bajo presión reducida. Se agregaron acetato de isopropilo y la solución del ácido acético en acetato de isopropilo adicionales al residuo caliente de la destilación a 50-55°C. Durante la adición del ácido acético, el lote se sembró con la sal de acetato de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona para iniciar temprano la cristalización controlada de la sal de acetato a 50-55°C. Después de enfriarse gradualmente hasta 0°C, la suspensión del producto se filtró y se lavó dos veces con acetato de isopropilo frío. La torta del filtro se secó de 50°C a 90°C bajo presión reducida hasta tener un peso constante, para dar la sal de acetato de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina en un rendimiento típico de aproximadamente el 80 %.

Ejemplo 4: Análisis de XRPD y DSC de la (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina en su forma de sal de acetato

El análisis de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina en su forma de sal de acetato se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones experimentales:

Método de XRPD	
Instrumento	Bruker D8 Advance (reflexión)
Irradiación	CuK α (40 kV, 30 mA)
Paso	0.017 grd
Tipo de exploración	Exploración continua
Tiempo de exploración	107.1 segundos
Rango de exploración	2°-40° (valor 2-Theta)

- 5 El análisis de calorimetría de exploración diferencial (DSC) se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones experimentales:

Método de DSC	
Instrumento	Perkin Elmer Diamond
Intervalo de temperatura	30°C - 300°C
Masa de muestra	2 a 3 miligramos
Bandeja de muestra	Aluminio cerrada
Flujo de nitrógeno	20-50 K / minuto

Análisis de XRPD de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina

- 10 La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina se analizó mediante difracción en polvo de rayos-X (XRPD), y los picos característicos se muestran en la siguiente tabla (véase también la Figura 6). De éstos, los picos en 8.8, 11.5, 16.4, 17.6, 18.2, 19.6, 20.1, 20.8, y 21.1° 2-Theta son los más característicos.

Ángulo (2-Theta °)	Intensidad	Ángulo (2-Theta °)	Intensidad
8.8	alta	19.1	baja
10.0	baja	19.6	media
11.5	alta	20.1	alta
14.2	baja	20.8	alta
14.6	baja	21.1	media
15.7	baja	23.3	media
16.4	alta	26.2	baja
17.6	media	26.6	media
18.2	alta	27.1	media

La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona cristalina se analizó mediante calorimetría de exploración diferencial (DSC), y se encontró que tiene una amplia endotermia alrededor de 170°C.

5 **Ejemplo 5:** Solubilidades comparativas de las formas de base libre, de sal de acetato, y de sal de glicolato del compuesto A

10 Se analizaron las solubilidades relativas de la forma de base libre de las formas de sal de acetato y glicolato del compuesto A, y los resultados se muestran en la siguiente Tabla. Las soluciones se titularon con la adición de HCl o NaOH para el ajuste del pH. Las solubilidades acuosas mejoradas de las formas de sal de acetato y glicolato en relación con la forma de base libre del compuesto A hacen que las sales de acetato y glicolato del compuesto sean más adecuadas para inyección subcutánea o infusión.

Solubilidad de la base libre del Compuesto A en H ₂ O	Solubilidad de sal de acetato del Compuesto A en H ₂ O	Solubilidad de sal de glicolato del Compuesto A en H ₂ O
--	---	---

pH	Conc. en mg/mL	pH	Conc. en mg/mL	pH	Conc. en mg/mL
6.2	0.27	5.9	1.33	5.1	13.1
7.0	0.05	6.0	1.11	5.3	6.39
7.3	<0.01	6.1	1.10	5.4	4.47
7.8	<0.01	6.2	0.55		

Ejemplo 6: Perfiles celulares *in vitro* del compuesto de la invención (Compuesto A), su enantiómero (Compuesto B), su racemato (Compuesto A/B), y formoterol

5 El compuesto de la invención (Compuesto A) muestra los siguientes valores EC₅₀ en la Prueba 1 como se describe anteriormente en la presente.

Compuestos	Células CHO [#] EC ₅₀ (E _{max} %)			Células primarias; respuesta cAMP, EC ₅₀ (E _{max} %)		
	β ₂ AR	β ₁ AR	α _{1A} AR	skMC de Humano	skMC de Rata	Cardio-miocitos de Rata
Formoterol	0.7 nM (99% ^{**})	85 nM (86% ^{**})	190 nM	0.2 nM	0.9 nM	2.9 nM
Compuesto A (R)	5.6 nM (88% ^{**})	560 nM (32% ^{**})	> 10 μM	0.7 nM (96% [*])	3.4 nM (98% [*])	5.7 nM (71% ^{**})
Compuesto B (S)	950 nM (83% ^{**})	> 10 μM	> 30 μM	280 nM (100% [*])	n.d.	n.d.
Compuesto A/B	11 nM (87% ^{**})	684 nM (38% ^{**})	n.d.	0.63 nM (100% [*])	n.d.	n.d.

Compuestos	Células CHO [#] EC ₅₀ (E _{max} %)			Células primarias; respuesta cAMP, EC ₅₀ (E _{max} %)		
	β2 AR	β1 AR	α1A AR	skMC de Humano	skMC de Rata	Cardio-miocitos de Rata
Sal de acetato del Compuesto A (R)	2.5 nM (91%**)	n.d.	n.d.	1.7 nM (93%**)	n.d.	n.d.

skMC: miotubos esqueléticos diferenciados; #: comparándose con formoterol; **: comparándose con isoprenalina; #: AMP para β1 y β2, Ca²⁺ para α1A; n.d.: no determinado.

- 5 El compuesto de la invención (Compuesto A) es un agonista de β2 AR potente y selectivo con una eficacia intrínseca muy baja sobre β1 AR y ninguna actividad sobre α1A AR. Su enantiómero, el Compuesto B, es muy débil sobre β2 AR con una EC₅₀ de 950 nM.

Ejemplo 7: Efectos del Formoterol y el Compuesto A sobre el peso del músculo esquelético y del corazón *in vivo*

10 Las ratas Wistar Han IGS machos (International Genetic Standard) (CrI:WI(Han)) con un peso de 350 a 400 gramos, se adquirieron en Charles River Laboratories. Las ratas se aclimataron a la instalación durante 7 días. Los animales se alojaron en grupos de 3 animales a 25°C con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 horas. Se alimentaron con una dieta de laboratorio estándar conteniendo el 18.2 % de proteína y el 3.0 % de grasa con un contenido de energía de 15.8 MJ/kilogramo (NAFAG 3890, Kliba, Basilea, Suiza). Se proporcionaron alimento y agua *ad libitum*. El Formoterol o el Compuesto A se disolvió en el vehículo indicado más adelante, para alcanzar un intervalo de dosis de 0.003 a 0.03 miligramos/kilogramo/día para el Formoterol, y de 0.01 a 0.1 miligramos/kilogramo/día para el Compuesto A, con el modelo "ML4 de Alzet, durante 28 días. Las bombas se llenaron con la solución, y se mantuvieron durante varias horas a 37°C en suero regulado con fosfato hasta la implantación quirúrgica. Las ratas se trataron subcutáneamente con Temgesic en una dosis de 0.02 miligramos/ kilogramo con un volumen de 1 mililitro/kilogramo cuando menos 30 minutos antes de la cirugía, y entonces las bombas llenadas con la solución indicada anteriormente se implantaron subcutáneamente en el lomo de las ratas bajo anestesia con isoflurano en una concentración del 3 %. El Temgesic se administró subcutáneamente a las ratas 24 horas y 48 horas después de la cirugía. Los pesos corporales se midieron dos veces por semana. Los clips se removieron 10 días después de la cirugía bajo anestesia. Cuatro semanas después del tratamiento, las ratas se sometieron a eutanasia con CO₂, y se disectaron y se pesaron los músculos tibial anterior, gastrocnemio y sóleo, el corazón y el cerebro. El peso del cerebro se utilizó para la normalización de los pesos de los órganos. Los resultados se expresan como el promedio +/- SEM. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando la prueba de comparación múltiple de Dunnett en seguida del análisis de variación de una vía, para comparar los grupos de tratamiento con el grupo de control con vehículo. Las diferencias se consideraron como significativas cuando el valor de probabilidad fue < 0.05: Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el GraphPad Prism versión 5.0 (GraphPad Software, Inc., la Jolla, CA). El peso del músculo se normalizó al peso corporal en el día 0 (el peso corporal inicial), y el peso del corazón se normalizó mediante el peso del cerebro.

Estudio 1: Formoterol

Grupo	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Vía	Régimen
-------	-------------	---------------	-----	---------

Grupo	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Vía	Régimen
1	Vehículo*	0	s.c.	Minibomba Alzet 2ML4 durante 4 semanas
2	Formoterol	0.003		
3	Formoterol	0.01		
4	Formoterol	0.03		

* Vehículo: 20% 1:2 Cremophor:Etanol en solución salina (NaCl al 0.9 %).

Estudio 2: Compuesto A

Grupo	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Vía	Régimen
1	Vehículo*	0	s.c.	Minibomba Alzet 2ML4 durante 4 semanas
2	Compuesto A	0.01		
3	Compuesto A	0.03		
4	Compuesto A	0.1		

* Vehículo: 20 % 1:2 Cremophor:Etanol en solución salina (NaCl al 0.9 %).

5 La Figura 1 muestra que el formoterol induce tanto hipertrofia del músculo esquelético como un incremento de la masa cardíaca hasta el mismo grado, mientras que el compuesto A induce hipertrofia del músculo esquelético con un impacto mínimo sobre la masa cardíaca, indicando que el compuesto A exhibe un efecto selectivo en el músculo esquelético sobre el músculo cardíaco. El compuesto A induce significativamente hipertrofia del músculo esquelético por el 11 % a 0.01 miligramos/kilogramo/día con una concentración en plasma de estado continuo de aproximadamente 0.2 nM, mientras que no hubo hallazgos en la histopatología del corazón incluso a 0.1 miligramos/kilogramo/día con una concentración de estado continuo de aproximadamente 2 nM.

Ejemplo 8: Efectos del Formoterol y del Compuesto A sobre la función de los órganos aislados (contracción de aurícula izquierda, frecuencia de latido del nódulo sino-auricular, y automaticidad del corazón entero)

Método

Contracción de aurícula izquierda: El ensayo de contracción de la aurícula izquierda se llevó a cabo en Ricerca

Biosciences, LLC (catálogo número 407,500 Adrenergic beta1), utilizando la aurícula izquierda del Cobayo Dunkin Hartley con un peso corporal de 600 +/-80 gramos (Arch. Int. Pharmacodyn. 1971: 191: 133-141.).

5 Frecuencia de latido del nódulo sino-auricular: Los conejos Nueva Zelanda hembras blancos se sacrificaron mediante exsanguinación después de una anestesia profunda utilizando una mezcla de quetamina/xilazina, intravenosamente (i.v.). Se removió rápidamente el corazón y se colocó en una solución de Tyrode. Esta solución se gasificó continuamente con O₂ al 95 %, CO₂ al 5 %, y previamente se calentó hasta aproximadamente 36°C ± 0.5°C. La aurícula derecha se separó del resto del corazón. Las preparaciones se montaron en un baño de tejido y se mantuvieron a 37°C ± 0.5°C durante cuando menos una hora para la estabilización. Los potenciales de acción (AP) se registraron intracelularmente con un microelectrodo de vidrio estándar llenado con KCl 3M, conectado a un amplificador neutralizante de impedancia de entrada alta (amplificador de microelectrodo VF-180, Bio-Logic). Los potenciales de acción (AP) se exhibieron en un osciloscopio digital (osciloscopio HM-407, HAMEG), y se analizaron por medio de un sistema de adquisición de datos de alta resolución (software Notocord hem 4.2, Notocord SA, Croissy, Francia). Después de una hora de estabilización, los compuestos se agregaron a la solución de Tyrode en concentraciones crecientes, manteniéndose cada concentración durante 30 minutos. No hubo deslavado entre dos concentraciones. Las mediciones electrofisiológicas se hicieron mediante el análisis de los potenciales de acción durante el protocolo experimental al final del período de perfusión de 30 minutos. La frecuencia espontánea del nódulo sino-auricular (SA) se evaluó contando el número de latidos cada 10 segundos con el fin de expresar los resultados en número de latidos por minuto (bpm). Los datos se expresaron como el promedio ± SEM.

20 Automaticidad: Se investigó la automaticidad en los corazones de conejos perfundidos Langendorff aislados, conducida por Hondeghem Pharmaceuticals Consulting N.V., B-8400 Oostende, Bélgica. Las pruebas se ejecutaron en corazones de conejos albinos hembras con un peso de aproximadamente 2.5 kilogramos, y que tenían una edad de aproximadamente 3 meses. Los efectos de los compuestos se midieron en un modelo completamente automatizado utilizando el corazón de conejo aislado perfundido de acuerdo con la técnica de Langendorff. El corazón que late espontáneamente se perfunde retrogradualmente con concentraciones crecientes del artículo de prueba. Se coloca cuidadosamente un electrodo en la aurícula izquierda con el objeto de registrar la duración del ciclo de la automaticidad del nódulo del seno.

25 Las Figuras 2a y 2b muestran los resultados obtenidos cuando se comparó el formoterol con el compuesto de la invención (Compuesto A).

30 El compuesto A no muestra efectos sobre la contracción de la aurícula izquierda con hasta 10 µM, y muestra efectos menos directos sobre la actividad del marcapasos, comparándose con el formoterol.

	Formoterol	Compuesto A
Contracción de aurícula izquierda EC ₅₀ (n=2)	17 nM	> 10 µM
Frecuencia de latido del nódulo sino-auricular, incremento máximo (n=6)	+45%	+6.2%
Automaticidad, incremento máximo (n=3)	+46%	+17%
Los valores en las Figuras 2a y 2b se expresan como el promedio ± SEM; Nódulo sino-auricular (n = 6), corazón aislado (n = 3).		

Ejemplo 9: Efectos del Formoterol y del Compuesto A sobre la frecuencia cardíaca *in vivo*

- 5 Las ratas Wistar Han (W-H) IGS (International Genetic Standard) (CrI:WI(Han)) se adquirieron en Charles River Laboratories. Se implantaron crónicamente catéteres venosos y arteriales femorales, y se exteriorizaron a través de un sistema de cabeza giratoria cautiva de resorte, y se alojaron en caulas especializadas. El catéter arterial se conectó a un transductor de presión para medir continuamente la presión del pulso, la presión arterial media, y la frecuencia cardíaca, que se derivó a partir de la señal de la presión sanguínea, por medio de un sistema de adquisición de datos digitales. Los compuestos se administraron por medio de un catéter subcutáneo (s.c.) implantado a través de la piel. Los valores se expresan como el promedio \pm SEM (n = 3).
- 10 El compuesto A muestra menos incrementos en la frecuencia cardíaca comparándose con el formoterol cuando se administra con un bolo subcutáneo (s.c.) de hasta 0.3 miligramos/kilogramo, como se muestra en las Figuras 3a, 3b y 3c.

Ejemplo 10: Efectos del Formoterol y del Compuesto A sobre la frecuencia cardíaca *in vivo*

- 15 Los monos Rhesus, 24 hembras con un peso corporal de alrededor de 4 a 8 kilogramos, se seleccionaron aleatoriamente en 4 grupos de n = 6. Los animales se restringieron en una silla hasta 4 horas después de una sola administración subcutánea de los compuestos, y entonces se regresaron a sus corrales. Las frecuencias cardíacas se midieron utilizando un dispositivo Surgivet V3304. Los valores se expresan como el promedio \pm SEM (n = 6).
- 20 El compuesto A muestra un menor incremento de la frecuencia cardíaca comparándose con el formoterol cuando se administra como un bolo subcutáneo (s.c.) de hasta 0.03 miligramos/kilogramo, como se muestra en las Figuras 4a y 4b.

Ejemplo 11: Efecto del Compuesto A, su enantiómero (Compuesto B), y su racemato (Compuesto A/B) sobre el receptor de Serotonina 5-HT_{2C}

- 25 Se utilizan membranas celulares de CHO de hr5-HT_{2C} recombinantes humanas (Biosignal Packard, EUA), y ³H-Mesulergina (NEN Life Science Products, EUA, 1 nM) para medir la afinidad de enlace de los compuestos con el receptor 5-HT_{2C} humano. El enlace no específico se evalúa en la presencia de Mesulergina 1 μ M. Se incuban cincuenta microlitros de cada uno de la membrana, el ligando, y el compuesto, en un volumen total de 250 microlitros, en placas de 96 pozos durante 60 minutos a 22°C, en un regulador que contiene Tris 50 mM, ácido ascórbico al 0.1 %, Pargilina 10 μ M, pH de 7.7. Las placas se filtran, se lavan 3 veces en Tris 50 mM helado, se secan, y se miden en el Topcount.
- 30 Las células CHO-K1 que co-expresaban la apoecorina mitocondrial, el 5-HT_{2Cne} de serotonina recombinante, y la proteína-G promiscua G _{α 16}, cultivadas hasta la fase mid-log en el medio de cultivo sin antibióticos, se desprendieron con PBS-EDTA, se centrifugaron, y se volvieron a suspender en el regulador de ensayo (DMEM/F12 de HAM con HEPES, sin rojo de fenol + albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 % sin proteasa), en una concentración de 1 x 10⁶ células/mililitro. Las células se incubaron a temperatura ambiente durante cuando menos 4 horas con coelenterazina h. El agonista de referencia fue el α -metil-5-HT. Para la prueba del agonista, se mezclaron 50 microlitros de la suspensión celular con 50 microlitros del agonista de prueba o de referencia en una placa de 96 pozos. La emisión de luz resultante se registra utilizando un luminómetro del sistema de rastreo de fármacos funcional Hamamatsu Functional Drug Screening System 6,000 (FDSS 6000). La actividad agonista del compuesto de prueba se expresó como un porcentaje de la actividad del agonista de referencia en su concentración EC₁₀₀.
- 35

5-HT _{2C} de Serotonina	Enlace	CHO EC ₅₀ (E _{max} %)
5-HT	n.d.	0.24 nM
Compuesto A (R)	11 μ M	280 nM (83%)
Compuesto B (S)	0.8 micras	19.7 nM (99%)

5-HT _{2C} de Serotonina	Enlace	CHO EC ₅₀ (E _{max} %)
Compuesto A/B	1.7 micras	25 nM (113%)

El Compuesto A es 50 veces menos activo sobre 5-HT_{2C} cuando se compara con la actividad del agonista β₂ AR (5.6 nM), mientras que su enantiómero, el Compuesto B, es muy débil sobre β₂ AR con una EC₅₀ de 950 nM pero mucho más potente sobre 5-HT_{2C} con una EC₅₀ de 19.7 nM, mostrando una selectividad inversa sobre el objetivo.

- 5 El Compuesto A también es más de 10 veces menos activo sobre 5-HT_{2C} cuando se compara con el racemato o el enantiómero (S), sugiriendo que es conveniente el perfil de efectos secundarios de este compuesto.

Ejemplo 12: Cápsulas Duras

Tabla 1 - Composición de cápsulas duras de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Ingrediente para el relleno de la cápsula	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
Sal de acetato de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona	0.60	5.95	11.90
Avicel PH101	71.90	66.55	60.60
Lactosa secada por aspersion	20.00	20.00	20.00
Ac-di-Sol	6.00	6.00	6.00
Aerosil 200	0.50	0.50	0.50
Estearato de magnesio	1.00	1.00	1.00

- 10 Se pueden preparar cápsulas de gelatina dura, cada una comprendiendo, como ingrediente activo, 0.5, 5 o 10 miligramos de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona (equivalentes a 0.60, 5.95 y 11.90 miligramos, respectivamente, de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona) con la composición enlistada en la Tabla 1, como sigue:

Preparación de premezcla:

La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con una porción de Avicel PH101 y Aerosil 200, se pasaron a través de un tamiz adecuado, y se mezclaron en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

- 20 Preparación de la mezcla final:

La premezcla anterior y la cantidad restante de Avicel PH101, lactosa secada por aspersión, y Ac-di-Sol, se pasaron a través de un tamiz adecuado, y se mezclaron en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

5 Esta mezcla se pasó entonces a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, y se mezcló nuevamente (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

De una manera similar, se agregó la cantidad requerida de estearato de magnesio tamizado al polvo a granel, y entonces se mezcló en el mismo recipiente de mezcla a aproximadamente 30 a 150 rotaciones.

Llenado:

10 Esta mezcla final se encapsula en cápsulas utilizando un equipo automatizado. La proporción en peso del relleno de la cápsula a las cubiertas de la cápsula vacía es de 2:1.

Ejemplo 13: Cápsulas Duras

Tabla 2 - Composición de cápsulas duras de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Ingrediente para el relleno de la cápsula	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
Sal de acetato de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona	0.60	5.95	11.90
CA-HYD-Fosfato	71.90	66.55	60.60
Avicel PH101	20.00	20.00	20.00
Almidón de carboxi-metilo de sodio	6.00	6.00	6.00
Aerosil 200	0.50	0.50	0.50
Estearato de magnesio	1.00	1.00	1.00

15 Las cápsulas con la composición mostrada en la Tabla 2 se pueden preparar siguiendo el proceso descrito en el Ejemplo 12.

Ejemplo 14: Cápsulas Duras

Tabla 3- Composición de cápsulas de gelatina duras de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Ingrediente para el relleno de la cápsula	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
---	---------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

Ingrediente para el relleno de la cápsula	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
Sal de acetato de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona	0.60	5.95	11.90
Manitol DC	64.40	59.05	53.10
STA-RX 1500	23.00	23.00	23.00
Hidroxi-propil-celulosa de baja sustitución	10.00	10.00	10.00
Talco	1.00	1.00	1.00
Estearato de magnesio	1.00	1.00	1.00

Las cápsulas con la composición mostrada en la Tabla 3 se pueden preparar siguiendo el proceso descrito en el Ejemplo 12.

Ejemplo 15: Tabletas

- 5 Las formulaciones enlistadas en el Ejemplo 14 (Tabla 3) también se pueden convertir en tabletas con concentraciones de dosificación de 0.5 miligramos, 5 miligramos y 10 miligramos, siguiendo el proceso descrito a continuación.

Preparación de premezcla:

- 10 La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con una porción de Manitol DC y el Talco, se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

Preparación de la mezcla final:

- 15 La premezcla anterior y la cantidad restante de Manitol DC, STA-RX 1,500, e hidroxi-propil-celulosa de baja sustitución, se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones). Esta mezcla entonces se tamiza a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, y se mezcla nuevamente (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones). Finalmente, el estearato de magnesio tamizado a través de un tamiz manual hasta un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, se mezcla con la mezcla anterior en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 30 a 150 rotaciones).

- 20 Compresión:

La mezcla final anterior se comprime hasta obtener un núcleo de tableta de aproximadamente 100 miligramos, utilizando la herramienta específica de la dosificación (por ejemplo, de aproximadamente 6 milímetros, redonda, curva).

Ejemplo 16: Tabletas

- 25 Tabla 4 - Composición de tabletas de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-

benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Ingrediente para núcleos de tabletas	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
Sal de acetato de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona	0.60	5.95	11.90
Avicel PH101	65.40	60.05	54.10
Lactosa secada por aspersión	20.00	20.00	20.00
HP-Celulosa 100	4.00	4.00	4.00
Ac-di-Sol	8.00	8.00	8.00
Aerosil 200	1.00	1.00	1.00
Estearato de magnesio	1.00	1.00	1.00

5 Se pueden preparar tabletas, cada una comprendiendo, como ingrediente activo, 0.5, 5 o 10 miligramos de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona (equivalente a 0.60, 5.95 y 11.90 miligramos, respectivamente, de la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona) con la composición enlistada en la Tabla 4, como sigue:

Preparación de premezcla:

10 La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con una porción de lactosa secada por aspersión y Aerosil 200 (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %), se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

15 La premezcla anterior y la cantidad restante de lactosa secada por aspersión, Avicel PH101, HP-Celulosa 100 y Ac-di-Sol (por ejemplo, aproximadamente al 4.0 %), se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

Esta mezcla se pasa a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, y se mezcla nuevamente (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

20 De una manera similar, se agrega la cantidad requerida de estearato de magnesio tamizado (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %) al polvo a granel, y entonces se mezcla en la misma mezcladora de tambor (de aproximadamente 30 a 150 rotaciones).

Compactación con Rodillos:

La mezcla anterior se compacta con rodillos utilizando un equipo de compactación. El material compactado se muele a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro utilizando un equipo de molienda.

Preparación de la mezcla final:

La premezcla anterior y la cantidad de Ac-di-Sol (por ejemplo, aproximadamente al 4.0 %), y Aerosil 200 (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %), se pasan a través de un tamiz adecuado mezclándose en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

- 5 El estearato de magnesio restante tamizado a través de un tamiz manual de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, se mezcla con la mezcla final en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 30 a 150 rotaciones).

Compresión:

- 10 La mezcla final anterior se comprime en una prensa giratoria hasta obtener los núcleos del peso apropiado (por ejemplo, de 100 miligramos), utilizando la herramienta específica de la dosificación (por ejemplo, de aproximadamente 6 milímetros, redondos, curvos).

Ejemplo 17: Tabletas

Tabla 5 - Composición de tabletas de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona

Ingrediente para núcleos de tabletas	% (peso/peso) para cápsulas de 0.5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 5 mg	% (peso/peso) para cápsulas de 10 mg
Sal de acetato de (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona	0.60	5.95	11.90
Manitol DC	58.40	53.05	47.10
STA-RX 1500	23.00	23.00	23.00
HP-Celulosa de baja sustitución	10.00	10.00	10.00
Kollidon VA64	6.00	6.00	6.00
Talco	1.00	1.00	1.00
Estearato de magnesio	1.00	1.00	1.00

Proceso de preparación:

Preparación de premezcla:

5 La sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con una porción de Manitol DC y Talco (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %), se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

La premezcla anterior y la cantidad restante de Manitol DC, STA-RX 1,500, Kollidon VA64, y una porción de HP-Celulosa de baja sustitución (por ejemplo, aproximadamente al 5.0 %), se pasan a través de un tamiz adecuado, y se mezclan en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

10 Esta mezcla se pasa a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, y se mezcla nuevamente (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

De una manera similar, se agrega la cantidad requerida de estearato de magnesio tamizado (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %) al polvo a granel, y entonces se mezcla en la misma mezcladora de tambor (de aproximadamente 30 a 150 rotaciones).

15 Compactación con rodillos:

La mezcla anterior se compacta con rodillos utilizando un equipo de compactación. El material compactado se muele a través de un tamiz de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, utilizando un equipo de molienda.

Preparación de la mezcla final:

20 La premezcla anterior y la cantidad restante de hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (por ejemplo, aproximadamente al 5.0 %), y talco (por ejemplo, aproximadamente al 0.5 %), se pasan a través de un tamiz adecuado con mezcla en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 100 a 300 rotaciones).

25 El estearato de magnesio restante tamizado a través de un tamiz manual de un tamaño de malla de aproximadamente 0.5 a 1.0 milímetro, se mezcla con la mezcla final en una mezcladora de tambor (de aproximadamente 30 a 150 rotaciones).

Compresión:

La mezcla final anterior se comprime en una prensa giratoria hasta obtener los núcleos del peso apropiado (por ejemplo, de 100 miligramos), utilizando la herramienta específica de la dosificación (por ejemplo, de aproximadamente 6 milímetros, redondos, curvos).

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está en una forma de sal de acetato.
2. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, la cual comprende del 0.01 al 5 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.
- 10 3. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, la cual comprende del 0.1 al 1 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona.
4. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual está en la forma de una tableta o de una cápsula.
5. Composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el uno o más excipientes se selecciona a partir de un agente de relleno, lubricante, deslizante, desintegrante y aglutinante.
- 15 6. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el agente de relleno está presente en una cantidad del 15 al 90 % (peso/peso).
7. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en donde el lubricante está presente en una cantidad del 0.1 al 1 % (peso/peso).
- 20 8. Composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde el deslizante está presente en una cantidad del 0.1 al 1 % (peso/peso).
9. Composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde el aglutinante está presente en una cantidad del 1 al 20 % (peso/peso).
10. Composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en donde el desintegrante está presente en una cantidad del 1 al 20 % (peso/peso).
- 25 11. Un método para la elaboración de una composición farmacéutica adecuada para su administración oral que comprende la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona, el cual comprende los pasos de:
- a) mezclar la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona con un agente de relleno y un deslizante para formar una premezcla;
- 30 b) mezclar la premezcla obtenida en el paso a) con un agente de relleno adicional y un desintegrante para obtener un polvo;
- c) agregar un lubricante al polvo obtenido en el paso b), para obtener una mezcla final; y
- d) procesar la mezcla final obtenida en el paso c), en una composición farmacéutica adecuada para su administración oral.
- 35 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la sal de acetato de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona se utiliza en una cantidad suficiente para proporcionar del 0.01 al 15 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona en la composición farmacéutica.
- 40 13. Una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende del 0.01 al 15 % (peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está en una forma de sal de acetato, para utilizarse como un medicamento.
14. Una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida, la cual comprende del 0.01 al 15 %

(peso/peso) de la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde la (R)-7-(2-(1-(4-butoxi-fenil)-2-metil-propan-2-il-amino)-1-hidroxi-etil)-5-hidroxi-benzo-[d]-tiazol-2(3H)-ona está en una forma de sal de acetato, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de enfermedades de consunción muscular

- 5 15. Una composición farmacéutica en una forma de dosificación oral sólida de acuerdo con la reivindicación 14, para su uso en el tratamiento o prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

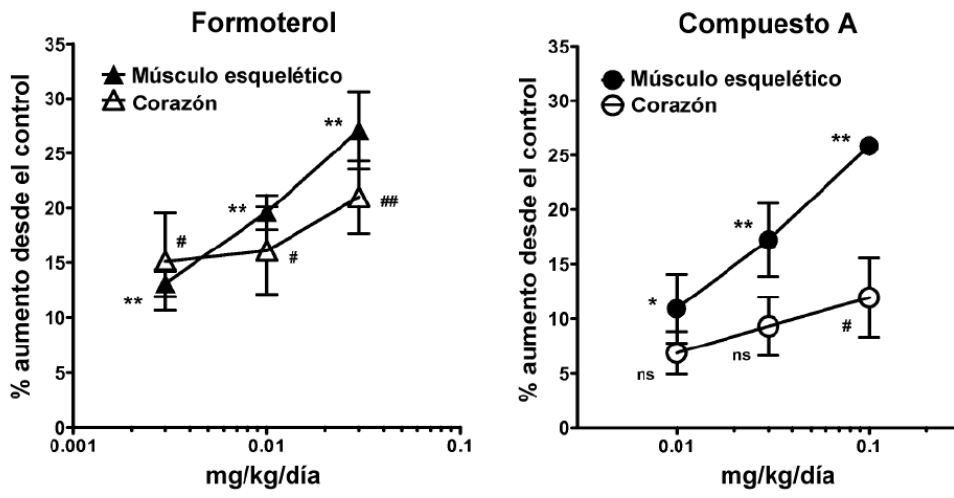


FIG. 1

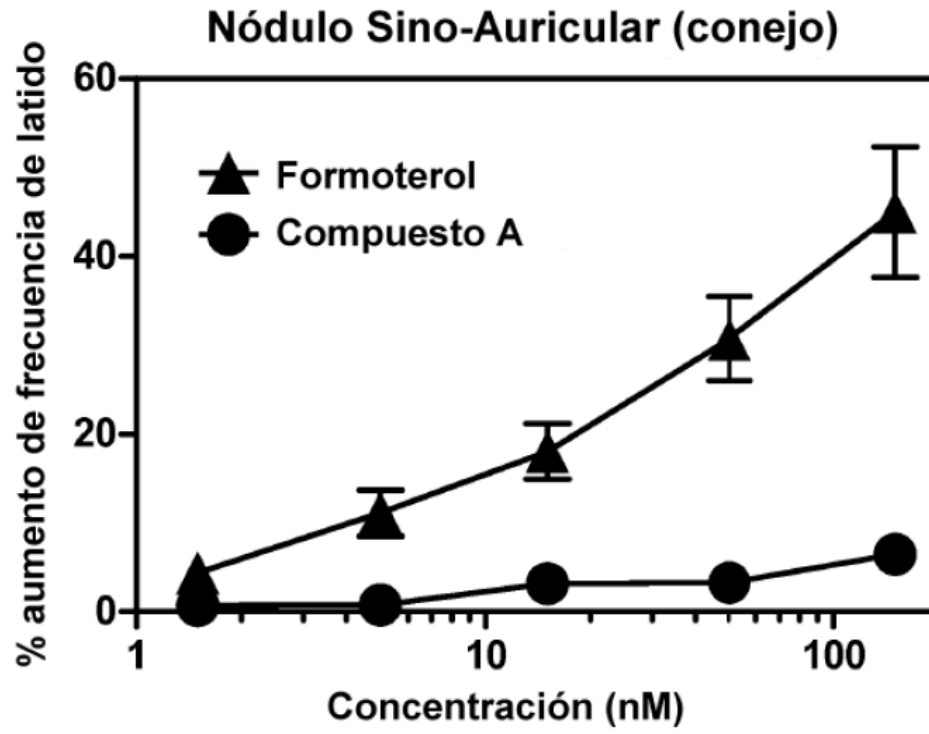


FIG. 2a

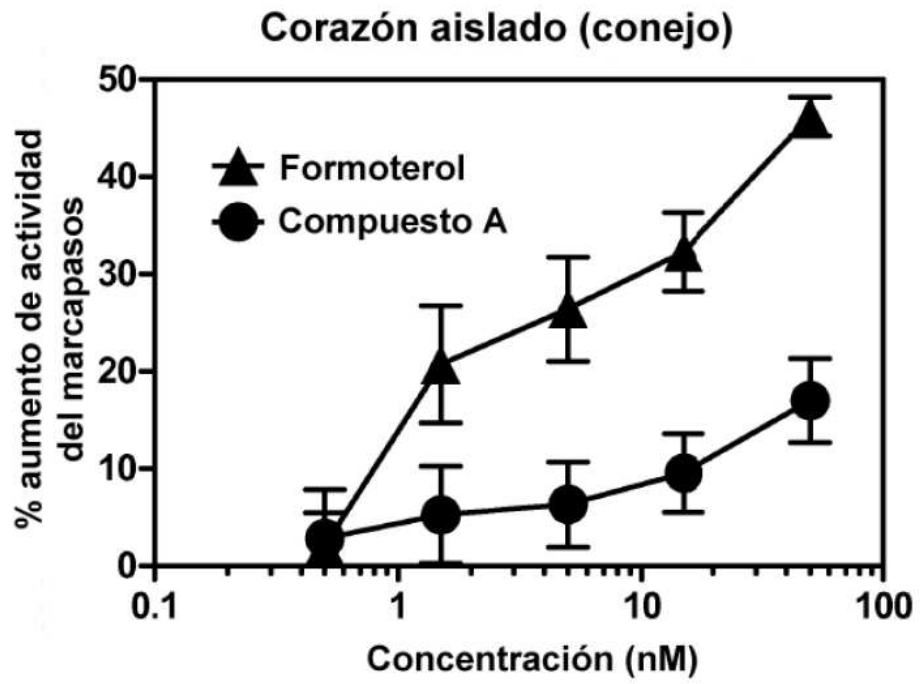


FIG. 2b

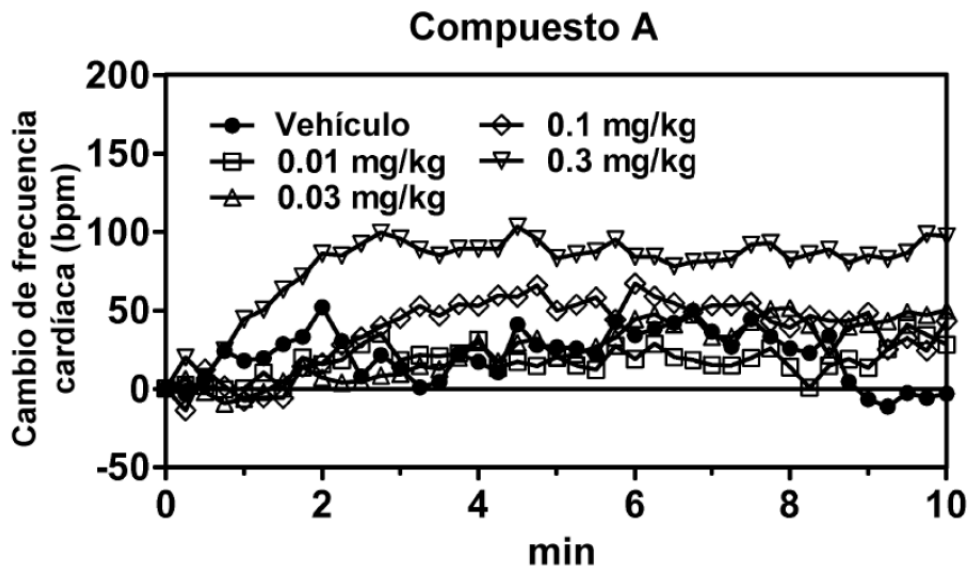


FIG. 3a

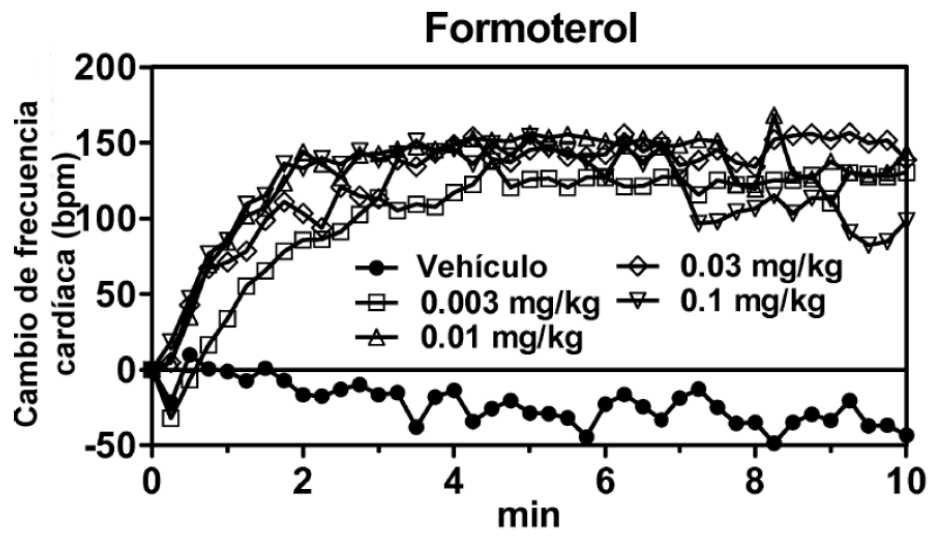


FIG. 3b

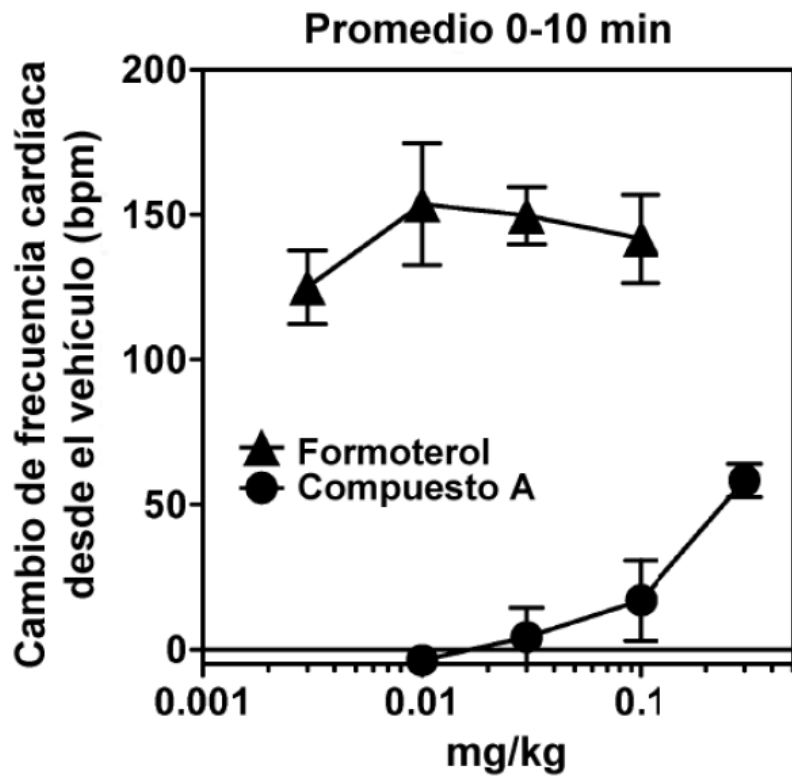


FIG. 3c

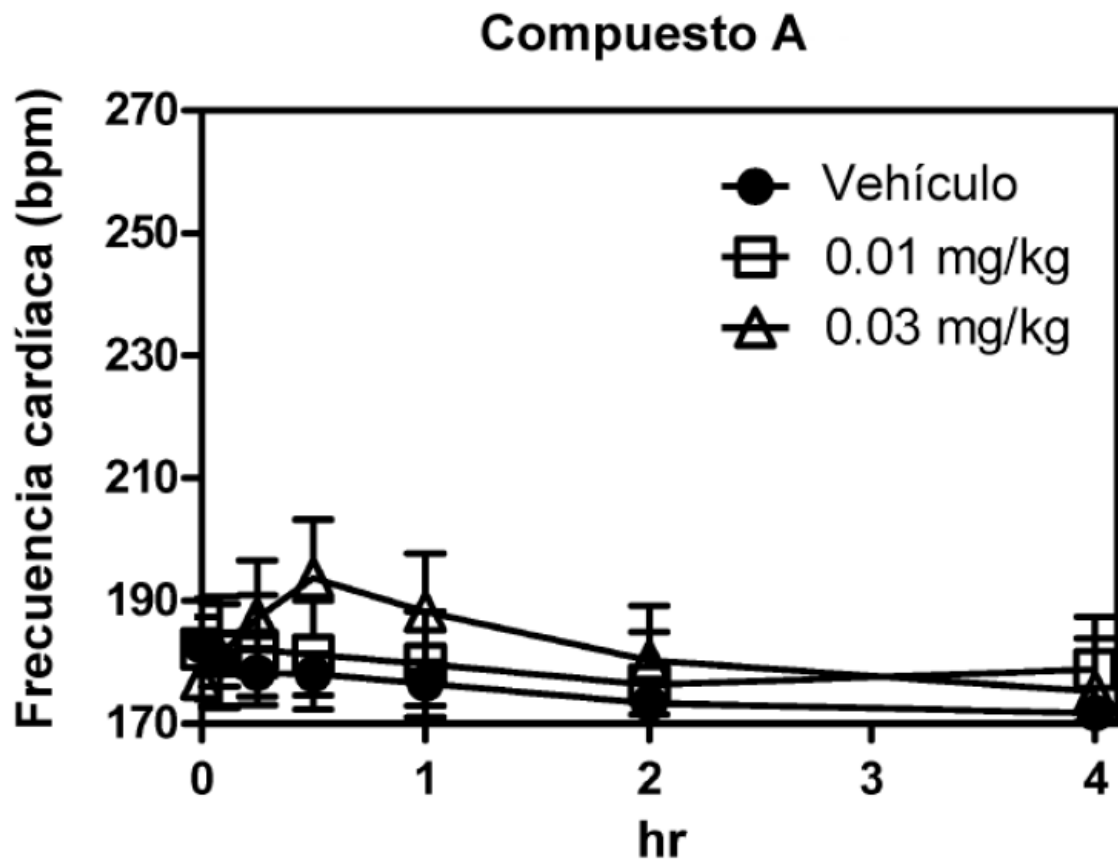


FIG. 4a

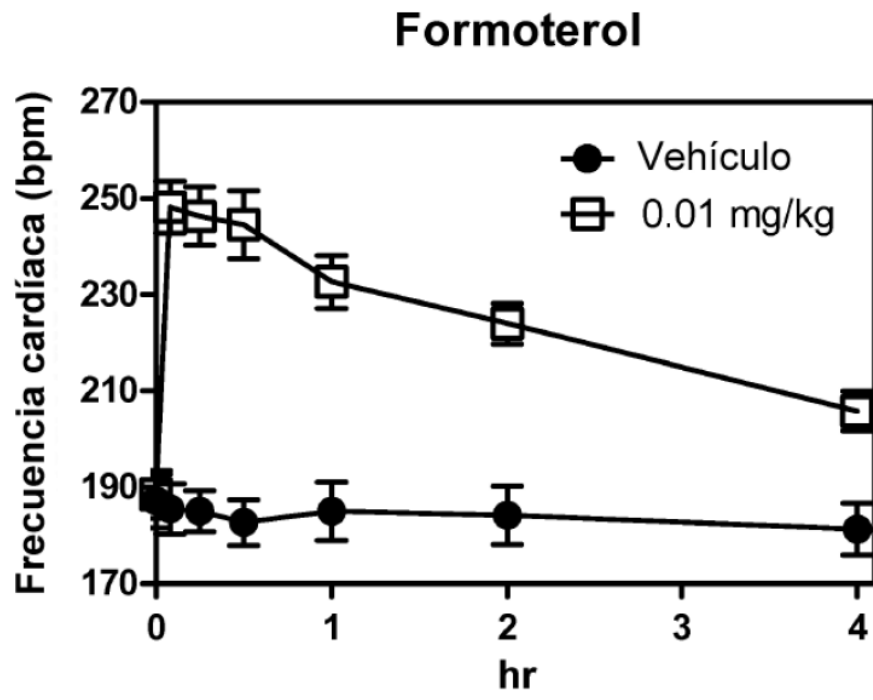


FIG. 4b

Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la sal de acetato cristalina del Compuesto A

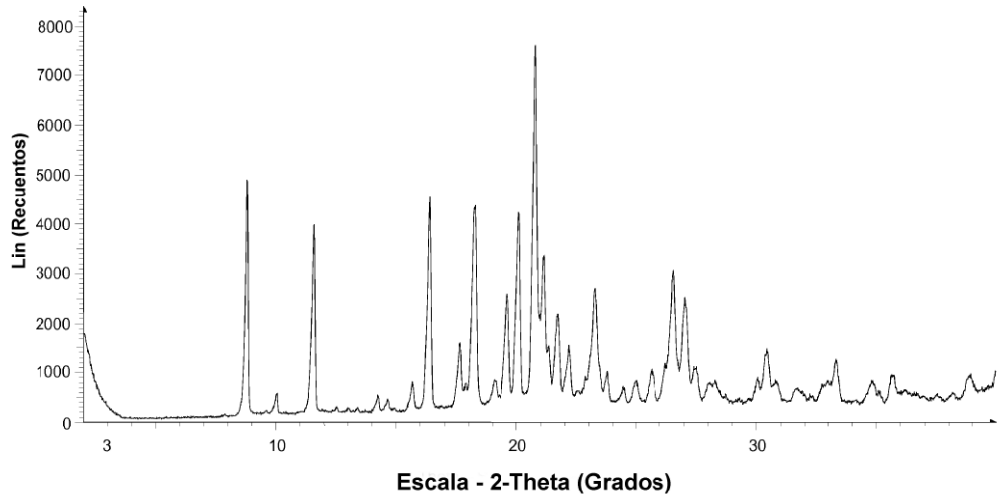


FIG. 5