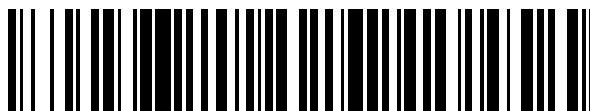


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 003**

51 Int. Cl.:

**C07D 277/68** (2006.01)

**A61K 31/428** (2006.01)

**A61P 21/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2013** **PCT/IB2013/058109**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014** **WO14033654**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2013** **E 13812075 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017** **EP 2890687**

54 Título: **Sales de un compuesto de benzotiazolona como agonistas del adreno-receptor beta-2**

30 Prioridad:

**30.08.2012 IQ 2392012**

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

**14.11.2017**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GRANDEURY, ARNAUD y**  
**TUFILLI, NICOLA**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 642 003 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

Sales de un compuesto de benzotiazolona como agonistas del adreno-receptor beta-2

La presente invención se refiere a un compuesto de benzotiazolona, (como se reivindica) a su preparación, a su uso médico como un agonista del adreno-receptor beta-2, y a medicamentos, composiciones farmacéuticas y combinaciones que lo comprenden.

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.

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.

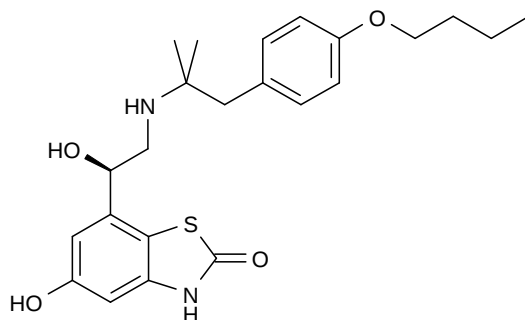
Existe una necesidad de proporcionar nuevos agonistas de beta-2 que sean buenos fármacos candidatos. En particular, un nuevo agonista de beta-2 debe enlazarse potentemente al adreno-receptor beta-2, mientras que muestre poca afinidad por otros receptores, tales como, por ejemplo, el adreno-receptor beta-1, el adreno-receptor alfa-1A, o el receptor 5HT<sub>2c</sub>, 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.

El compuesto de la invención es un agonista selectivo de beta-2. En particular, muestra un aumento de afinidad por 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<sub>2c</sub>), y una potencia funcional más baja en las células que expresan el 5HT<sub>2c</sub> 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<sub>2c</sub> 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.

Por consiguiente, el compuesto de la presente invención es 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 un uso contemplado. Todas las formas de caquexia son potencialmente tratables con los compuestos de la presente invención, incluyendo caquexia por cáncer, por ejemplo.

En un primer aspecto de la invención, por consiguiente, se proporciona una forma cristalina de un compuesto de la fórmula (I), el cual es:



(I)

en la forma de la sal de acetato.

El compuesto de la invención es 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.

Las siguientes son realizaciones de la invención:

5 Realización 1: Un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

Realización 2: Un compuesto que es 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.

Realización 3: Una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

10 Realización 4: Una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 3, en donde uno de los vehículos farmacéuticamente aceptables es alcohol bencílico.

Realización 5: Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, y uno o más co-agentes terapéuticamente activos.

15 Realización 6: Un compuesto para uso en un método para el tratamiento o la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, a un sujeto que lo necesite.

Realización 7: Un compuesto para uso en un método de acuerdo con la realización 6, en donde el compuesto se administra mediante infusión subcutánea.

20 Realización 8: Un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, para utilizarse como un medicamento.

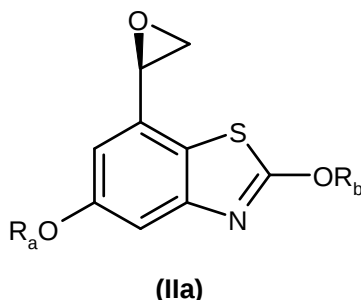
Realización 9: Un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

25 Realización 10: El uso de un compuesto de acuerdo con las realizaciones 1 o 2, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

Realización 11: Un proceso para la elaboración de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, el cual incluye los pasos de:

a. la reacción de un compuesto de la fórmula (IIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:

30

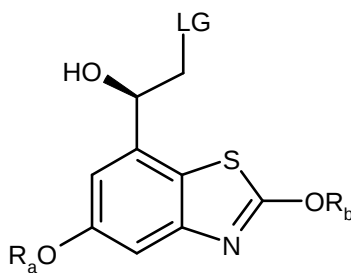


en donde R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> son grupos protectores con 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina;

b. la escisión de los grupos protectores opcionalmente presentes;

35 c. la recuperación del compuesto de la fórmula (I) que se pueda obtener de esta manera, en la forma de la sal de acetato.

No Realización 12: Un proceso para la elaboración de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, de acuerdo con la realización 11, en donde el compuesto (IIa) se obtiene mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (IIIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



(IIIa)

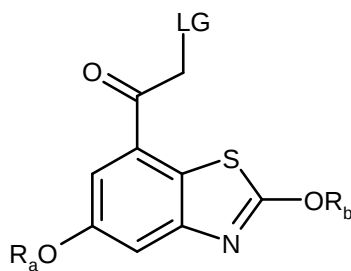
en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente con una base y opcionalmente un catalizador de transferencia de fases.

No Realización 13: Un proceso de acuerdo con la realización 12, en donde la base es carbonato de potasio.

5 No Realización 14: Un proceso de acuerdo con la realización 13, en donde la base es hidróxido de sodio.

15: Un proceso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 12 a 14, en donde el catalizador de transferencia de fases es yoduro de tetra-butil-amonio.

10 16: Un proceso para la elaboración de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, de acuerdo con las realizaciones 12 a 15, en donde el compuesto (IIIa) se obtiene mediante la reducción estereoselectiva de un compuesto de la fórmula (IVa-2), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



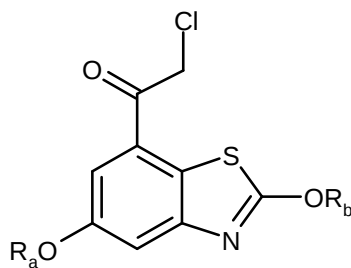
(IVa-2)

en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente.

15 No Realización 17: Un proceso de acuerdo con la realización 16, en donde la reducción estereoselectiva se lleva a cabo con  $[N-[(1S,2S)-2-(\text{amino-}\kappa N)-1,2\text{-difenil-etil}]-4\text{-metil-bencen-sulfonamidato-}\kappa N]\text{cloro}[(1,2,3,4,5,6-\eta)-1\text{-metil-4-(1-metil-etil)-benceno}]\text{-rutenio}$  ( $\text{RuCl}(\text{p-cimeno})[(S,S)\text{-Ts-DPEN}]$ ).

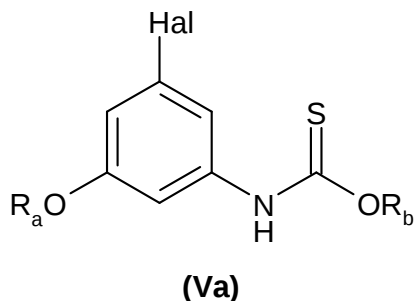
No Realización 18: Un proceso de acuerdo con la realización 16 o 17, en donde LG es cloro.

20 No Realización 19: Un proceso de acuerdo con la realización 18, en donde el compuesto (IVa'-2), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



(IVa'-2)

se obtiene mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (Va), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



5

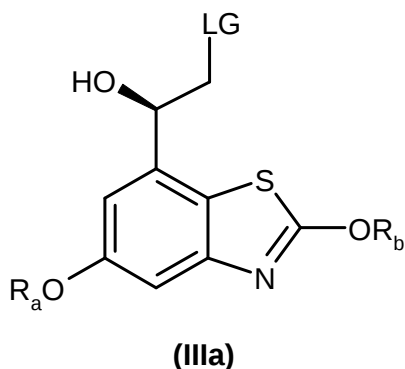
en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y Hal es un halógeno con 2-cloro-N-metoxi-N-metil-acetamida, en la presencia de una base fuerte.

No Realización 20: Un proceso de acuerdo con la realización 19, en donde la base fuerte es terbutil-litio.

10

No Realización 21: Un proceso para la elaboración de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, el cual incluye los pasos de:

a) la reacción de un compuesto de la fórmula (IIIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



15

en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente con 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina;

b) la escisión de cualquiera los grupos protectores todavía presentes;

20

c) la recuperación del compuesto de la fórmula (I) que se pueda obtener de esta manera, en la forma de la sal de acetato.

No Realización 22: Un proceso de acuerdo con la realización 21, en donde LG es cloro o *p*-toluen-sulfonilo.

No Realización 23: Un proceso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 11 a 22, en donde  $R_a$  es butilo terciario.

25

No Realización 24: Un proceso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 11 a 23, en donde  $R_b$  es isopropilo.

#### 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  $\pm$  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.

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).

5 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).

Las Figuras 3a y 3b muestran el cambio en la frecuencia cardíaca en ratas después de un bolo subcutáneo 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).

10 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.

La Figura 5 muestra el patrón de difracción en polvo de rayos-X de la base libre cristalina del compuesto A (compuesto de la invención).

15 La Figura 6 muestra el patrón de difracción en polvo de rayos-X de la sal de acetato cristalina del compuesto A (compuesto de la invención).

La Figura 7 muestra el patrón de difracción en polvo de rayos-X de la sal de glicolato cristalina del compuesto A (compuesto de la invención).

20 El término "compuesto de la presente invención", "compuesto de la invención" o "compuesto A" se refiere al compuesto como se reivindica, a los hidratos o solvatos del compuesto, así como a los tautómeros y compuestos isotópicamente marcados (incluyendo las sustituciones con deuterio). El compuesto de la presente invención comprende además los polimorfos del compuesto de la fórmula (I).

Como se utiliza en la presente, el término "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo, y yodo.

25 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 30 (*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.

35 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.

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*).

40 Por consiguiente, en una realización de la invención, se proporciona 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 un exceso enantiomérico de cuando menos el 95 %.

En otra realización de la invención, se proporciona 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 un exceso enantiomérico de cuando menos el 98 %.

45 En todavía otra realización de la invención, se proporciona 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 un exceso enantiomérico de cuando menos el 99 %.

50 En una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva 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, y uno o más vehículos aceptables farmacéuticamente, 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 otra realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva 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, y uno o más vehículos aceptables farmacéuticamente, 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 todavía otra realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva 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, y uno o más vehículos aceptables farmacéuticamente, 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 %.

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.

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.

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'-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.

Como se utilizan en la presente, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base del compuesto de la invención. Las "sales" incluyen en particular las "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades del compuesto de esta invención, y que típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables. El compuesto de la fórmula I de la presente invención es capaz de formar una sal característica con un ácido definido en virtud de la presencia de un grupo amino básico en la cadena lateral. También es capaz de formar las sales características con las bases definidas en virtud de la presencia de dos grupos ácidos (fenol; anillo de tiazolona) en la fracción heterocíclica.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canfor-sulfonato, cloruro/clorhidrato, clorotefilonato, citrato, etan-disulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, glicólico, hipurato, lodhidrato/yoduro, isetonato, lactato, lactobionato, lauril-sulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metil-sulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfo-salicilato, tartrato, tosilato y trifluoro-acetato.

Se proporciona 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, benzoato, canforato, fumarato, glicolato, lactato, malonato, mesilato, succinato, sulfato, tartrato o xinafoato.

La 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 una forma de sal de acetato.

Se proporciona 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 glicolato.

Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares.

Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético,

ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metan-sulfónico, ácido etan-sulfónico, ácido toluen-sulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares.

5 Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, las sales de amonio y de los metales a partir de las columnas I a XII de la Tabla Periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan a partir de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio y hierro; las sales particularmente adecuadas incluyen las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

10 Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo las aminas sustituidas que se presentan naturalmente, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio de iones, y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropil-amina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietil-amina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

15 Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de una fracción básica o ácida, mediante los métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas de ácido libre del compuesto con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, o bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K, o similares), o mediante la reacción de las formas de base libre de los compuestos 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<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> edición revisada, 2011).

20 Adicionalmente, el compuesto de la presente invención, incluyendo sus sales, 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 los 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 sean 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.

35 El compuesto de la presente invención, incluyendo las sales, hidratos y solvatos del mismo, puede formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.

Se proporciona 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.

40 En otra realización de la invención, se proporciona 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.

Se proporciona la sal de glicolato 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.

Se proporciona 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 una forma sustancialmente pura.

45 En otra realización de la invención, se proporciona 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 una forma sustancialmente pura.

Se proporciona la sal de glicolato 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 una forma sustancialmente pura.

50 Como se utiliza en la presente, "sustancialmente pura", cuando se utiliza con referencia 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 cristalina, o a su sal farmacéuticamente aceptable, 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 (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, o de su sal farmacéuticamente aceptable.

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

5 La divulgación se refiere a una forma cristalina 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 tienen valores de ángulo de refracción  $2\theta$  seleccionados a partir de 8.5, 13.3, 13.9, 14.4, 15.2, 17.2, 17.5, 18.1, 21.3 y 22.5°, cuando se miden utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde estos valores son más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

10 En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina 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  $2\theta$  de 15.2°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

15 En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina 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  $2\theta$  de 18.1°, 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 divulgación se refiere a una forma cristalina 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  $2\theta$  de 22.5°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina 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 5.

25 En otro aspecto, la invención se refiere a 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 tienen valores de ángulo de refracción  $2\theta$  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  $0.2^\circ 2\theta$ .

30 En una realización, la invención se refiere a 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  $2\theta$  de 8.8°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

35 En una realización, la invención se refiere a 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  $2\theta$  de 16.4°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

40 En una realización, la invención se refiere a 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  $2\theta$  de 20.8°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

45 En una realización, la invención se refiere a 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 6, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ . Para los detalles véase el Ejemplo 6.

50 En todavía otro aspecto, la divulgación se refiere a una forma cristalina de la sal de glicolato 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 tienen valores de ángulo de refracción  $2\theta$  seleccionados a partir de 8.7, 11.6, 16.1, 18.0, 19.8, 20.7, y 21.1°, cuando se miden utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde estos valores son más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina de la sal de glicolato 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  $2\theta$  de 18.0°, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

55 En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina de la sal de glicolato 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  $2\theta$  de  $19.8^\circ$ , cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

5 En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina de la sal de glicolato 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  $2\theta$  de  $20.7^\circ$ , cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ , más particularmente, en donde este valor es más o menos  $0.2^\circ 2\theta$ .

10 En una realización, la divulgación se refiere a una forma cristalina de la sal de glicolato 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 7, cuando se mide utilizando radiación de  $\text{CuK}\alpha$ . Para los detalles véase el Ejemplo 7.

15 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 ( $2\theta$ ) mostrarán alguna variabilidad inter-aparatos, típicamente de tanto como  $0.2^\circ$ . 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.

20 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 divulgación 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 las Figuras 5, 6 y 7 acompañantes, como se dan 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 las Figuras 5, 6 y 7 acompañantes, caen dentro del alcance de la presente divulgación. La capacidad para aseverar las identidades sustanciales de los patrones de difracción de rayos-X está dentro del alcance de un experto ordinario en este campo.

35 Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquéllos en donde el solvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido por ejemplo,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{d}_6$ -acetona,  $\text{d}_6$ -DMSO.

40 La fórmula dada en la presente también pretende representar las formas no marcadas así como las formas isotópicamente marcadas del compuesto. Un compuesto isotópicamente marcado de la invención tiene una estructura ilustrada por la fórmula dada en la presente, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionados. Los ejemplos de los isótopos que se pueden incorporar en el compuesto de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, de carbono, de nitrógeno, de oxígeno, de fósforo, de flúor, y de cloro, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{125}\text{I}$ , respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente marcados, como se definen en la presente, por ejemplo, aquéllos en donde hay isótopos radioactivos presentes, tales como  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ , o aquéllos en donde hay isótopos no radioactivos presentes, tales como  $^2\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Estos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con  $^{14}\text{C}$ ), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo,  $^2\text{H}$  o  $^3\text{H}$ ), en las técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo fotón (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución del fármaco o del sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En particular, un  $^{18}\text{F}$  o un compuesto marcado puede ser particularmente deseable para los estudios de PET o SPECT. Un compuesto isotópicamente marcado de la fórmula (I) se puede preparar en términos generales mediante las técnicas convencionales conocidas por los expertos en este campo o mediante procesos análogos a aquéllos descritos en los ejemplos acompañantes, utilizando un reactivo isotópicamente marcado apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

55 Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir,  $^2\text{H}$  o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la vida media *in vivo*, o requerimientos de dosificación reducida, o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la fórmula (I). La concentración de este isótopo más pesado, específicamente deuterio, se puede definir por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", como se utiliza en la presente,

significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en el compuesto de esta invención es denotado como deuterio, este compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de cuando menos 3,500 (52.5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), de cuando menos 4,000 (60 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 4,500 (67.5 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,000 (75 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,500 (82.5 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,000 (90 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,333.3 (95 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,466.7 (97 % de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,600 (99 % de incorporación de deuterio), o de cuando menos 6,633.3 (99.5 % de incorporación de deuterio).

El compuesto de la invención puede ser capaz de formar co-cristales con formadores de co-cristales adecuados. Estos co-cristales se pueden preparar a partir de un compuesto de la fórmula (I) mediante los procedimientos de formación de co-cristales conocidos. Estos procedimientos incluyen molienda, calentamiento, co-sublimación, co-fusión, o poner en contacto en solución un compuesto de la fórmula (I) con el formador de co-cristales bajo condiciones de cristalización, y el aislamiento de los co-cristales formados de esta manera. Los formadores de co-cristales adecuados incluyen aquéllos descritos en la Publicación Internacional Número WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además co-cristales, los cuales comprenden un compuesto de la fórmula (I).

Como se utiliza en la presente, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensoactivos, antioxidantes, conservadores (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de absorción, sales, conservadores, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, tintes, y similares, y combinaciones de los mismos, como serían conocidos por los expertos en este campo (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>a</sup> Edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289-1329). Excepto hasta donde cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

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.

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.

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.

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.

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.

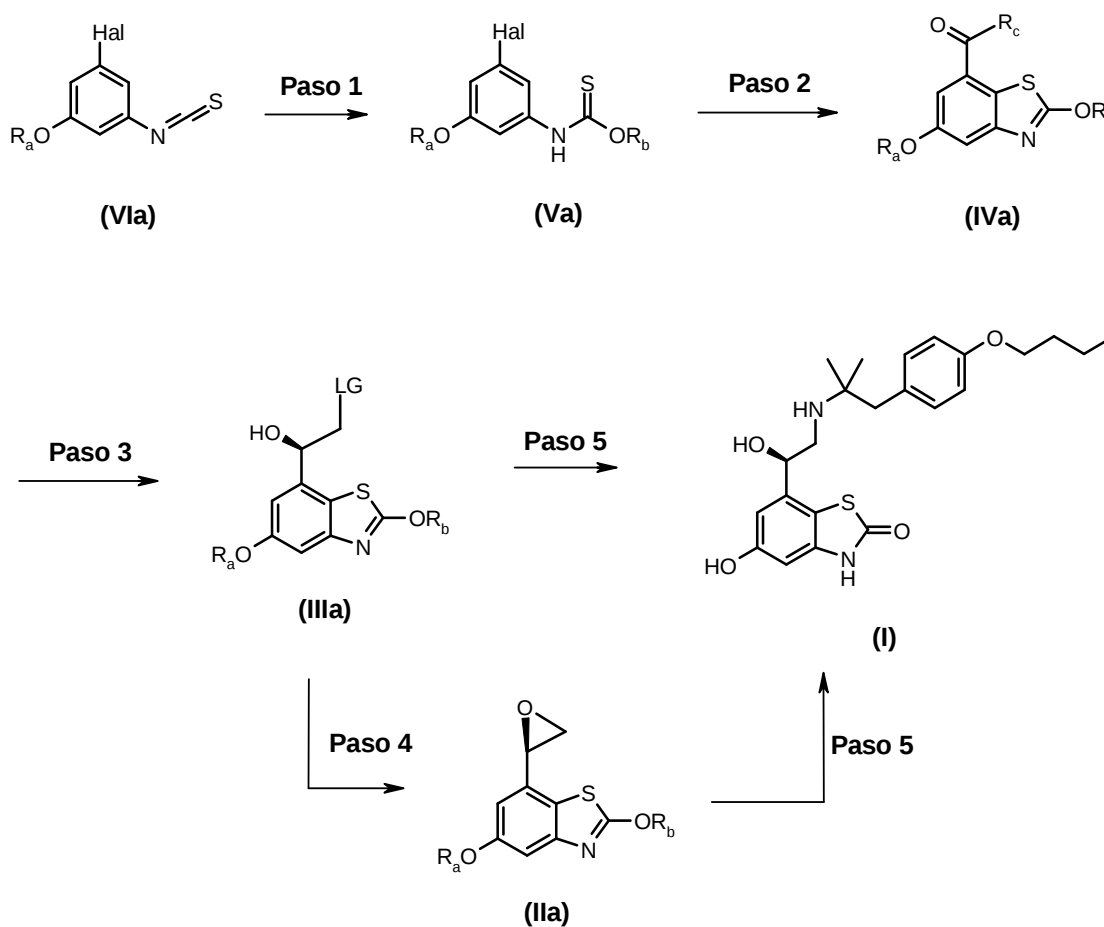
Como se utiliza en la presente, un sujeto tiene "necesidad de" tratamiento si este sujeto se beneficiaría

biológicamente, médicamente, o en su calidad de vida, a partir de dicho tratamiento.

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.

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 reclamada de otra manera.

El compuesto de la fórmula (I) se puede preparar de acuerdo con el esquema proporcionado a continuación.



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

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.

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

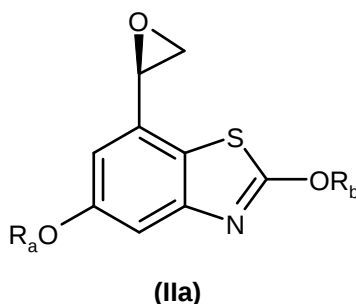
estereoselectiva para dar un compuesto de la fórmula (IIIa), en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente.

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.

- 5 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).

10 En un aspecto adicional, la invención se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, el cual comprende:

a) la reacción de un compuesto de la fórmula (IIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:

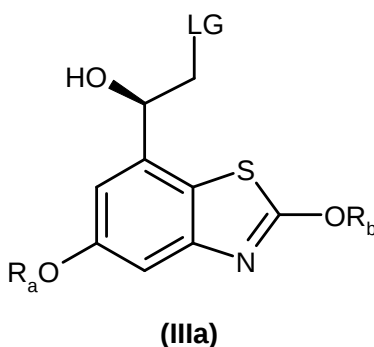


en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores con la 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina;

- 15 b) la escisión de cualquiera los grupos protectores todavía presentes;
- c) la recuperación del compuesto de la fórmula (I) que se pueda obtener de esta manera, en la forma de la sal de acetato.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un proceso para la elaboración de un compuesto de la fórmula (I) en la forma de la sal de acetato, el cual incluye los pasos de:

- 20 a) la reacción de un compuesto de la fórmula (IIIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:

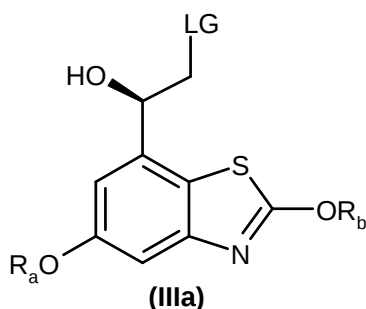


en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente con la 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina;

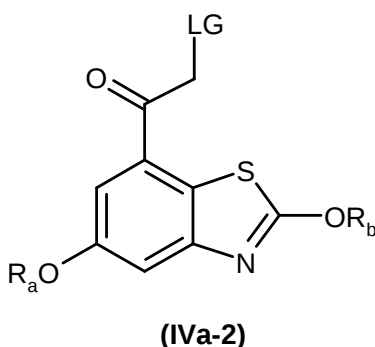
- 25 b) la escisión de cualquiera los grupos protectores todavía presentes;
- c) la recuperación del compuesto de la fórmula (I) que se pueda obtener de esta manera, en la forma de la sal de acetato.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula (IIIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:

30



el cual comprende la reducción estereoselectiva de un compuesto de la fórmula (IVa-2), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



- 5 en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente, para dar un compuesto de la fórmula (IIIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable.

En los procesos de la divulgación o de la invención, los grupos protectores típicos incluyen isopropilo, terbutilo, terbutil-dimetil-sililo.

- 10 En los procesos de la divulgación o de la invención, los grupos salientes típicos incluyen cloruro, *p*-toluen-sulfonilo, bromuro, metan-sulfonilo, bencen-sulfonilo, yoduro.

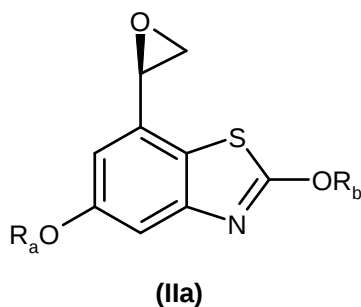
- 15 Las reacciones se pueden efectuar de acuerdo con los métodos convencionales, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos. El procesamiento de las mezclas de reacción y la purificación de los compuestos que se pueden obtener de esta manera, se pueden llevar a cabo de acuerdo con los procedimientos conocidos. Las sales de adición de ácido se pueden producir a partir de las bases libres de una manera conocida, y *viceversa*. El compuesto de la fórmula (I) también se puede preparar mediante procesos convencionales adicionales, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos, cuyos procesos son aspectos adicionales de la invención.

- 20 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.

- 25 La invención incluye además cualquier variante de los presentes procesos, 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.

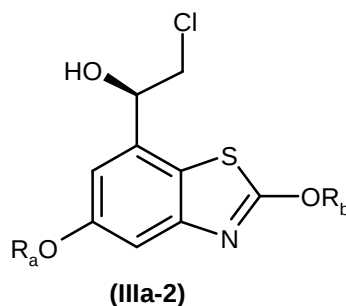
En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un compuesto de la fórmula (IIa), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores,

$R_a$  y  $R_b$  pueden ser independientemente seleccionados a partir del grupo que incluye terbutilo, isopropilo y terbutil-dimetil-sililo. En un aspecto,  $R_a$  es terbutilo. En un aspecto,  $R_b$  es isopropilo.

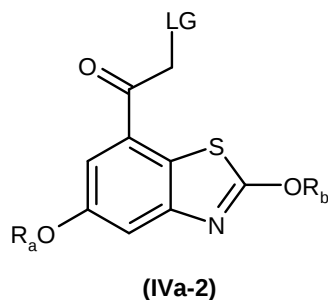
- 5 En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un compuesto de la fórmula (IIIa-2), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores.

- 10  $R_a$  y  $R_b$  pueden ser independientemente seleccionados a partir del grupo que incluye terbutilo, isopropilo y terbutil-dimetil-sililo. En un aspecto,  $R_a$  es terbutilo. En un aspecto,  $R_b$  es isopropilo.

En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un compuesto de la fórmula (IVa-2), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:

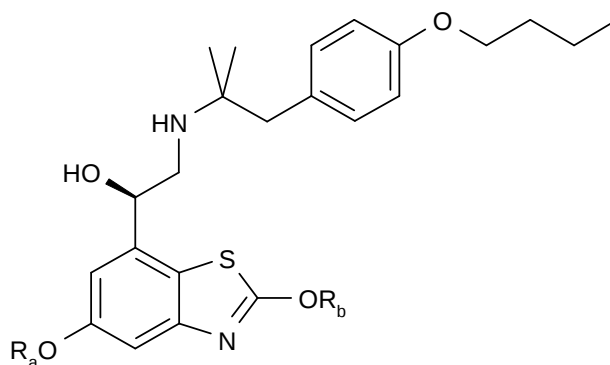


en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores, y LG es un grupo saliente.

- 15 LG puede ser cloro.

$R_a$  y  $R_b$  pueden ser independientemente seleccionados a partir del grupo que incluye terbutilo, isopropilo y terbutil-dimetil-sililo. En un aspecto,  $R_a$  es terbutilo. En un aspecto,  $R_b$  es isopropilo.

En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un compuesto de la fórmula (Ia), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable:



(Ia)

en donde  $R_a$  y  $R_b$  son grupos protectores.

5  $R_a$  y  $R_b$  pueden ser independientemente seleccionados a partir del grupo que incluye terbutilo, isopropilo y terbutil-dimetil-sililo. En un aspecto,  $R_a$  es terbutilo. En un aspecto,  $R_b$  es isopropilo.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende el compuesto de la presente invención en la forma de la sal de acetato, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En particular, la divulgación se refiere a una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) en forma libre, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización, la divulgación se refiere a una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En otra realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) en una forma de sal de acetato, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En todavía otra realización, la divulgación se refiere a una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) en una forma de sal de glicolato, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

La composición farmacéutica se puede formular para vías de administración particulares, tales como administración oral, aplicación transdérmica, administración parenteral, administración rectal, administración subcutánea, etc. En adición, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden configurar en una forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, tabletas, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en una forma líquida (incluyendo, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). 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 convencionales, así como adyuvantes, tales como conservadores, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, y reguladores del pH, etc.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas son tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con:

- a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
- 30 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, metilcelulosa, carboxi-metil-celulosa de sodio y/o polivinil-pirrolidona; si se desea,
- d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o
- 35 e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

Las tabletas pueden tener recubrimiento de película o recubrimiento entérico de acuerdo con los métodos conocidos en este campo.

Las composiciones adecuadas para su administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención en la forma de tabletas, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones pretendidas para uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica 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 mezclado 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 o 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 no se recubren, o bien se recubren mediante técnicas conocidas para demorar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y de esta manera proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de demora de tiempo tal como monestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde se mezcla el ingrediente activo con un diluyente sólido inerte, por ejemplo carbonato de calcio, fosfato de calcio, o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde se mezcla el ingrediente activo con agua o con un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida, o aceite de oliva.

El compuesto de la invención se puede administrar oralmente a especies pre-clínicas como una forma de dosificación líquida con el fármaco en un vehículo en solución o en suspensión. Los vehículos en solución pueden estar compuestos de un tensoactivo (por ejemplo, Cremophor o Solutol), un solvente (por ejemplo, propilenglicol), y un agente regulador (por ejemplo, regulador cítrico). Las formulaciones en suspensión pueden contener un tensoactivo (por ejemplo, Tween 80), un agente polimérico (por ejemplo, metil-celulosa (MC)), y un agente regulador (por ejemplo, fosfato).

Los ejemplos de las formulaciones en solución adecuadas para los estudios pre-clínicos se estipulan a continuación:

| Ingrediente<br>(% en peso/peso) | Solución 1 | Solución 2 |
|---------------------------------|------------|------------|
| Cremophor RH40                  | 10         | -          |
| Solutol HS15                    | -          | 10         |
| Regulador cítrico 50 mM, pH 3   | 90         | 90         |

Preparación: Primero se disuelve la base libre o 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 el tensoactivo, y se mezclan hasta que se obtenga una solución. En seguida, se agrega el regulador, y la solución se mezcla para proporcionar una solución transparente. Las formulaciones en solución 1 y 2 son capaces de soportar una dosis de hasta 10 miligramos/mililitro. Ambas formulaciones son químicamente y físicamente estables después de 1 semana a temperatura ambiente.

Los ejemplos de las formulaciones en suspensión adecuadas para los estudios pre-clínicos se estipulan a continuación:

| Ingrediente<br>(% en peso/peso)                 | Suspensión 1 | Suspensión 2 |
|-------------------------------------------------|--------------|--------------|
| MC al 0.5% en regulador de fosfato 50 mM pH 6.8 | 100          | 99.5         |

| Ingrediente<br>(% en peso/peso) | Suspensión 1 | Suspensión 2 |
|---------------------------------|--------------|--------------|
| Tween 80                        | -            | 0.5          |

Preparación: 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 dispersa en el tensoactivo, y se mezcla para homogeneizar la suspensión. Entonces se agrega por goteo la solución polimérica y se mezcla. Se obtiene una suspensión homogénea con pequeñas partículas. La suspensión es químicamente y físicamente estable después de 1 semana a temperatura ambiente.

Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios convenientemente se preparan a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Estas composiciones se pueden esterilizar y/o pueden contener adyuvantes, tales como agentes conservadores, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores del pH. En adición, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Estas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen de aproximadamente el 0.1 al 75 %, o contienen de aproximadamente el 1 al 50 % del ingrediente activo.

Las composiciones adecuadas para su aplicación subcutánea incluyen, por ejemplo, el compuesto de la invención con el 2.5 % de poloxámero 407 en el 0.9 % de cloruro de sodio. Los ejemplos de los dispositivos adecuados para las composiciones inyectables incluyen bombas de infusión, tales como el sistema OmniPod de Insulet.

El compuesto de la invención también se puede administrar mediante inyección subcutánea de múltiples dosis, utilizando un auto-inyector o un inyector PEN. Las composiciones de formulación adecuadas para dicha inyección subcutánea se estipulan a continuación.

| Componente            | Formulación 1           | Formulación 2           |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| Compuesto A           | 1.00 mg                 | 1.00 mg                 |
| Ácido acético         | 0.60 mg                 | 0.60 mg                 |
| Manitol               | 50 mg                   | 50 mg                   |
| Alcohol bencílico     | 8.00 mg                 | 10.00 mg                |
| Hidróxido de sodio 1N | ajustado a un pH de 5.0 | ajustado a un pH de 5.0 |
| Agua para inyecciones | agregar hasta 1.016 g   | agregar hasta 1.016 g   |

Se encontró que el alcohol bencílico (en comparación con el fenol o con el m-cresol) es un conservador particularmente adecuado para una formulación para inyección subcutánea.

Por consiguiente, en una realización de la divulgación, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, el compuesto A en una forma de sal de acetato), y alcohol bencílico.

En una realización adicional de la divulgación, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, el compuesto A en una forma de sal de acetato), y entre el 0.1 y el 10; entre el 0.1 y el 5; entre el 0.5 y el 2; entre el 0.5 y el 1.5; o entre el 0.9 y el 1.1 % (peso/volumen) de alcohol bencílico.

- 5 Las composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención con un vehículo adecuado. Los vehículos adecuados para suministro transdérmico incluyen solventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Una combinación de PG / OA (propilenglicol / alcohol oleílico) es un ejemplo de un solvente adecuado. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos pueden estar en la forma de un parche, el cual comprenda un miembro de respaldo, un depósito que contenga al compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera de control de velocidad para suministrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y previamente determinada durante un período de tiempo prolongado, y elementos para asegurar el dispositivo a la piel.

- 10 Las composiciones adecuadas para su aplicación tópica, por ejemplo a la piel y a los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles, o formulaciones rociables, por ejemplo para suministrarse en aerosol o similar. Estos sistemas de suministro tópico serán apropiados en particular para aplicación dérmica. De esta manera, son particularmente adecuadas para utilizarse en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas, bien conocidas en este campo. Éstas pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes mejoradores de tonicidad, reguladores del pH, y conservadores.

- 15 Como se utiliza en la presente, una aplicación tópica también puede pertenecer a una inhalación o a una aplicación intranasal. De una manera conveniente, se pueden suministrar en la forma de un polvo seco (ya sea solo, como una mezcla, por ejemplo una mezcla seca con lactosa, o bien como una partícula componente mezclada, por ejemplo con fosfolípidos) a partir de un inhalador de polvo seco o de una presentación de aspersión en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, aspersor, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras, las cuales comprenden los compuestos de la presente invención como ingredientes activos, debido a que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

- 20 Se pueden preparar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras de la invención utilizando ingredientes anhidros o que contengan una baja 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 que se sepa que previenen la exposición al agua, de tal forma que se puedan incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos del empaque adecuado incluyen, pero no se limitan a, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitaria (por ejemplo, frascos), paquetes de burbuja, y paquetes de tiras.

- 25 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen 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 El compuesto de la fórmula (I), 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 un producto químico de investigación, por ejemplo, como un compuesto de herramienta.

El compuesto de la invención puede ser útil en el tratamiento de una indicación seleccionada a partir de: distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

- 35 Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona el compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, como un medicamento. En una realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula (I) para utilizarse como un medicamento. En una realización adicional, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula (I) para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

- 40 Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona a partir de una enfermedad que se pueda tratar mediante la activación del adreno-receptor beta-2. En otra realización, la enfermedad se selecciona a partir de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto para uso en un método para el tratamiento de una enfermedad que se trate mediante la activación del adreno-receptor beta-2, el cual comprende la administración de una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto de la fórmula (I). En una realización adicional, la enfermedad se selecciona a partir de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

Un aspecto adicional de la divulgación, por consiguiente, se refiere a un compuesto para uso en un método para el tratamiento o la prevención de distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesite.

Como una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) para la elaboración de un medicamento. En una realización adicional, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad o de un trastorno que se pueda tratar mediante la activación del adreno-receptor beta-2. En otra realización, la enfermedad se selecciona a partir de la lista anteriormente mencionada, de una manera adecuada enfermedades de consunción muscular, de una manera más adecuada distrofia muscular, atrofia relacionada con desuso, caquexia o sarcopenia.

El compuesto de la presente invención se puede administrar ya sea simultáneamente con, o antes o después de, uno o más agentes terapéuticos diferentes. El compuesto de la presente invención se puede administrar por separado, por la misma o diferente vía de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes.

En una realización, la invención proporciona un producto que comprende un compuesto de la fórmula (I), y cuando menos otro agente terapéutico, como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2. Los productos proporcionados como una preparación combinada incluyen una composición que comprende el compuesto de la fórmula (I) y los otros agentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de la fórmula (I) y los otros agentes terapéuticos en una forma separada, por ejemplo, en la forma de un kit.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (I), y otros agentes terapéuticos. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, como se describe anteriormente.

Un aspecto adicional de la invención, por consiguiente, se refiere a una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), y uno o más co-agentes terapéuticamente activos.

En una realización, la invención proporciona un kit, el cual comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, cuando menos una de las cuales contiene un compuesto de la fórmula (I). En una realización, el kit comprende elementos para contener por separado estas composiciones, tales como un recipiente, un frasco dividido, o un paquete de lámina dividido. Un ejemplo de este kit es un paquete de burbujas, como se utiliza típicamente para el empaque de tabletas, cápsulas y similares.

El kit de la invención se puede utilizar para administrar formas de dosificación diferentes, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para titular las composiciones separadas una contra la otra. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención típicamente comprende instrucciones para la administración.

En las terapias de combinación de la invención, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden ser elaborados y/o formulados por el mismo o por diferentes fabricantes. Más aún, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico, se pueden reunir en una terapia de combinación: (i) antes de liberar el producto de combinación a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprenda el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por los médicos mismos (o bajo la guía del médico) poco antes de la administración; (iii) en los pacientes mismos, por ejemplo, durante la administración en secuencia del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

De conformidad con lo anterior, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2, en donde el medicamento se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2, en donde el medicamento se administra con un compuesto de la fórmula (I).

La invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) para utilizarse en un método para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2, en donde el compuesto de la fórmula (I) se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro agente terapéutico para utilizarse en un método para el tratamiento de una

enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2, en donde el otro agente terapéutico se prepara para su administración con un compuesto de la fórmula (I). La invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) para utilizarse en un método para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el agonismo del adreno-receptor beta-2, en donde el compuesto de la

La invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el adreno-receptor beta-2, en donde el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas) con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o condición modulada por el adreno-receptor beta-2, en donde el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas) con un compuesto de la fórmula (I).

En una realización, el otro agente terapéutico se selecciona a partir de testosterona, agonistas de andrógenos, o SARM (moduladores selectivos de los receptores de andrógenos); miméticos de IGF-1; bloqueadores de miostatina y su receptor ActRIIA/B; bloqueadores de TGFbeta y activina (como agentes contra la atrofia); inhibidores de ligasa Muf1/MAFbx E3; inhibidores de desacetilasa de histona o cualesquiera agentes oncolíticos (por ejemplo, para caquexia por cáncer); agentes anti-inflamatorios como los agentes anti-inflamatorios no esteroideos (NSAIDs), bloqueadores del factor de necrosis tumoral (TNF) o de IL-1b; moduladores metabólicos como agonistas de PPAR o miméticos de IL-15; agentes cardiovasculares como los bloqueadores de b(1) (por ejemplo, nebivolol) o ARB (por ejemplo, para caquexia cardíaca); oligómeros anti-sentido para saltarse exones (por ejemplo, para distrofia); un potenciador del apetito, tal como grelina, prostegina o antagonistas de MC-4; suplementos de nutrientes altos en proteína, y similares.

La composición o una combinación farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de aproximadamente 0.05 a 1,000 miligramos de ingrediente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50 a 70 kilogramos, o de aproximadamente 0.05 a 500 miligramos, o de aproximadamente 0.05 a 250 miligramos, o de aproximadamente 0.05 a 150 miligramos, o de aproximadamente 0.05 a 100 miligramos, o de aproximadamente 0.05 a 50 miligramos, o de aproximadamente 0.05 a 10 miligramos de ingredientes activos. La dosificación terapéuticamente efectiva de un compuesto, de la composición farmacéutica, o de las combinaciones de los mismos, depende de la especie del sujeto, del peso corporal, de la edad y condición individual, del trastorno o enfermedad que se esté tratando, o de la gravedad de la misma. Un médico, clínico, o veterinario de una experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los ingredientes activos necesaria para prevenir, tratar, o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

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 intravenosamente, por ejemplo, como una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* 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

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 becerro (FCS) al 20 % en placas de 384 pozos a 37°C, con CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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- $\beta$  humanos ( $\beta 1$  o  $\beta 2$ ) 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).

- 5 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 poniendo mecha a 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).

- Ca<sup>2+</sup>: 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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 cm<sup>2</sup> utilizando 3 mililitros de Tripsina-EDTA, se centrifugaron, y se volvieron a suspender en el medio de cultivo celular.

- 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 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 (abertura 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 EC<sub>100</sub> (A-61603 a 1  $\mu$ M), 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 EC<sub>50</sub> de menos de 10 nM. La actividad específica se muestra en el Ejemplo 10

- 50 En los Ejemplos 11 a 15 se describen otras actividades específicas del compuesto de la invención.

- 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.

- 60 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<sup>a</sup> 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.

- 5 **Ejemplos** (solamente los ejemplos cubiertos por el alcance de las reivindicaciones forman parte de la invención)

Lista de Abreviaturas:

1M uno molar

APCI ionización química a presión atmosférica

- 10 aq acuoso

AR adreno-receptor

atm atmósfera

br amplio

cm centímetros

- 15 d doblete

dd doble doblete

ddd doble doble doblete

(DHDQ)<sub>2</sub>PHAL 1,4-ftalazin-di-il-diéter de hidro-quinidina

DMAC dimetil-acetamida

- 20 DMSO sulfóxido de dimetilo

DSC calorimetría de exploración diferencial

ee exceso enantiomérico

equiv equivalentes

ES aspersión de electrones

- 25 g gramos

h horas

HPLC cromatografía de líquidos de alto rendimiento

HRMS espectroscopía de masas de alta resolución

m multiplete

- 30 MC metil-celulosa

mbar milibar

MeOH metanol

min minutos

ml mililitros

- 35 MS espectroscopía de masas

MTBE metil-terbutil-éter

nm nanómetros

RMN resonancia magnética nuclear

RT tiempo de retención

r.t. temperatura ambiente

s singulete

sat. saturado

5 sept septeto

t triplete

TFA ácido trifluoro-acético

µm micras

w/v peso/volumen

10 XRPD difracción en polvo de rayos-X

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.

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

Los espectros de <sup>1</sup>H-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.

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

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 30 milímetros, 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.

25 Condiciones de HRMS para el Ejemplo 2f:

Condiciones de HRMS para el Ejemplo 2f:

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;

30 Condición de gradiente:

| Tiempo [min.] | Fase B [%] |                       |
|---------------|------------|-----------------------|
| 0             | 5          |                       |
| 1             | 5          | Inicio de adquisición |
| 9             | 95         |                       |
| 11            | 95         | Final de adquisición  |
| 11.10         | 5          |                       |

| Tiempo [min.]                                                       | Fase B [%] |                     |
|---------------------------------------------------------------------|------------|---------------------|
| 14                                                                  | 5          | Siguiente inyección |
| Método de ionización: ESI+; MS rango de exploración: 100-1,000 m/z. |            |                     |

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

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

- 5 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
- 10 secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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.

[M-1]<sup>+</sup> = 194.2; RT = 5.3 minutos.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 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

- 15 La mezcla de 4-(2-metil-2-nitro-propil)-fenol (20.4 gramos), 1-bromo-butano (28.7 gramos), DMAC (200 mililitros), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (21.6 gramos), y yoduro de tetrabutyl-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
- 20 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.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 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).

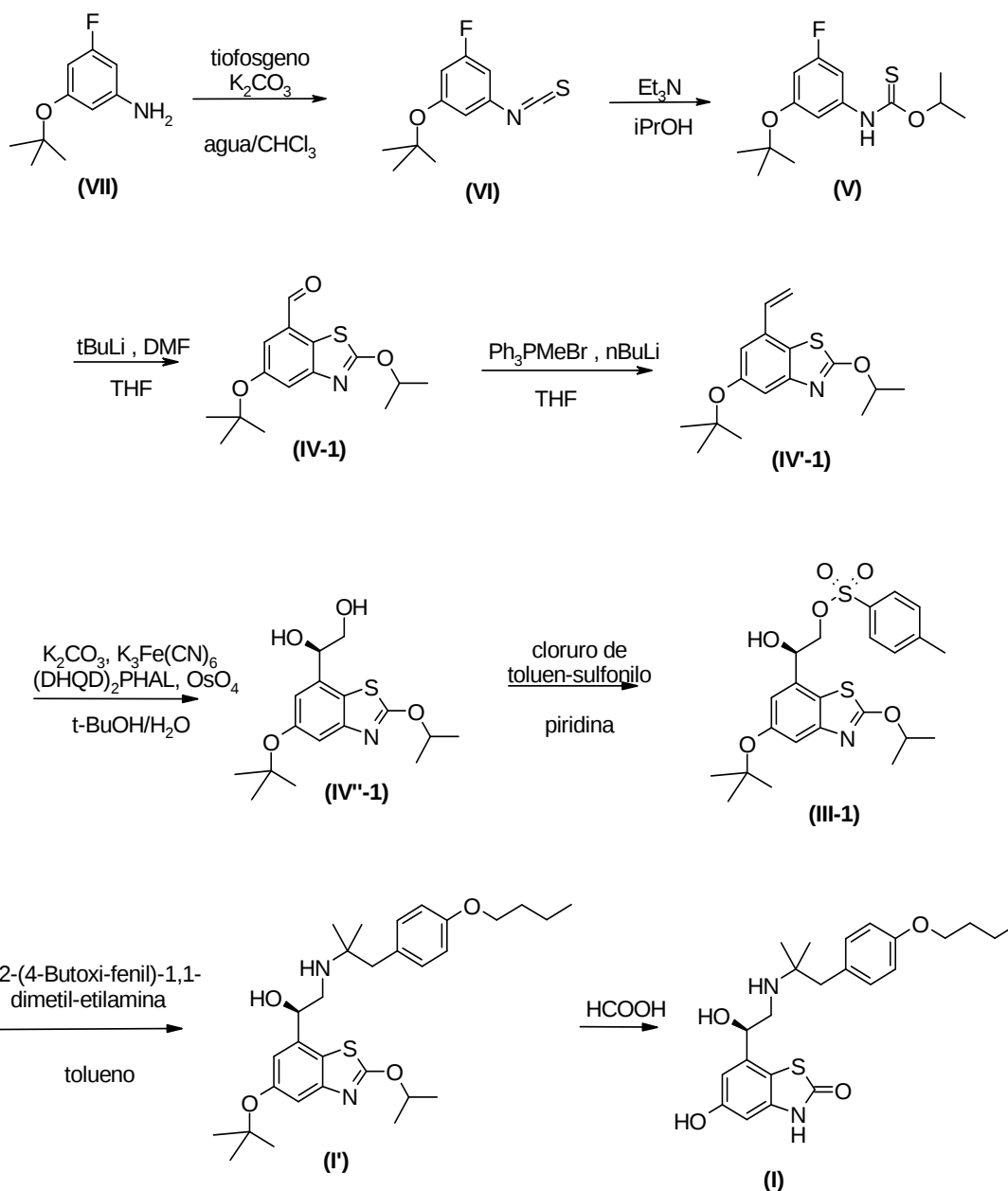
c) 2-(4-butoxi-fenil)-1,1-dimetil-etil-amina

- 25 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 H<sub>2</sub> 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
- 30 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. Todas las capas superiores se combinaron y se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> saturado (100 mililitros), y NaCl saturado (100 mililitros) antes de secarse con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Después de la filtración, la mezcla se concentró. El residuo resultante se agitó, y se agregó una solución de
- 35 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 %.

[MH]<sup>+</sup> = 222.2; RT = 5.0 minutos.

- 40 <sup>1</sup>H-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



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

Se agregan por goteo tiofosgeno (33.6 gramos) en  $\text{CHCl}_3$  (250 mililitros), y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (64.7 gramos) en  $\text{H}_2\text{O}$  (450 mililitros), por separado y de una manera simultánea, a una solución de 3-terbutoxi-5-fluoro-fenil-amina (42.9 gramos) en  $\text{CHCl}_3$  (350 mililitros) a  $0^\circ\text{C}$ . 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  $\text{MgSO}_4$ , 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).

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 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  $0^\circ\text{C}$  durante 3 horas. La solución se filtra, para dar el compuesto del título.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 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

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 *tert*-butil-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/isohexano, 1:9). MS (ES+) *m/e* 294 (MH<sup>+</sup>).

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

El Ph<sub>3</sub>PMe.Br (5.0 gramos) se disuelve en tetrahidrofurano (THF) seco (100 mililitros), bajo argón. Se agrega *n*-butil-litio (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 MgSO<sub>4</sub>, 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 / isohexano, 1:9). MS (ES+) *m/e* 292 (MH<sup>+</sup>).

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

Se disuelven K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> (1.2 gramos), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.5 gramos), (DHQD)<sub>2</sub>PHAL (19 miligramos) en *tert*-butanol/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 OSO<sub>4</sub> (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 MgSO<sub>4</sub>, 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/isohexano, 2:5).

MS (ES+) *m/e* 326 (MH<sup>+</sup>).

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

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 mili-moles) 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<sub>T</sub> = 2.47 minutos; (*m/z*): 480 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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

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). 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  $[M+H]^+$ .

$^1H$ -RMN: (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  (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).

5 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 semi-sólido amorfo.

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)).

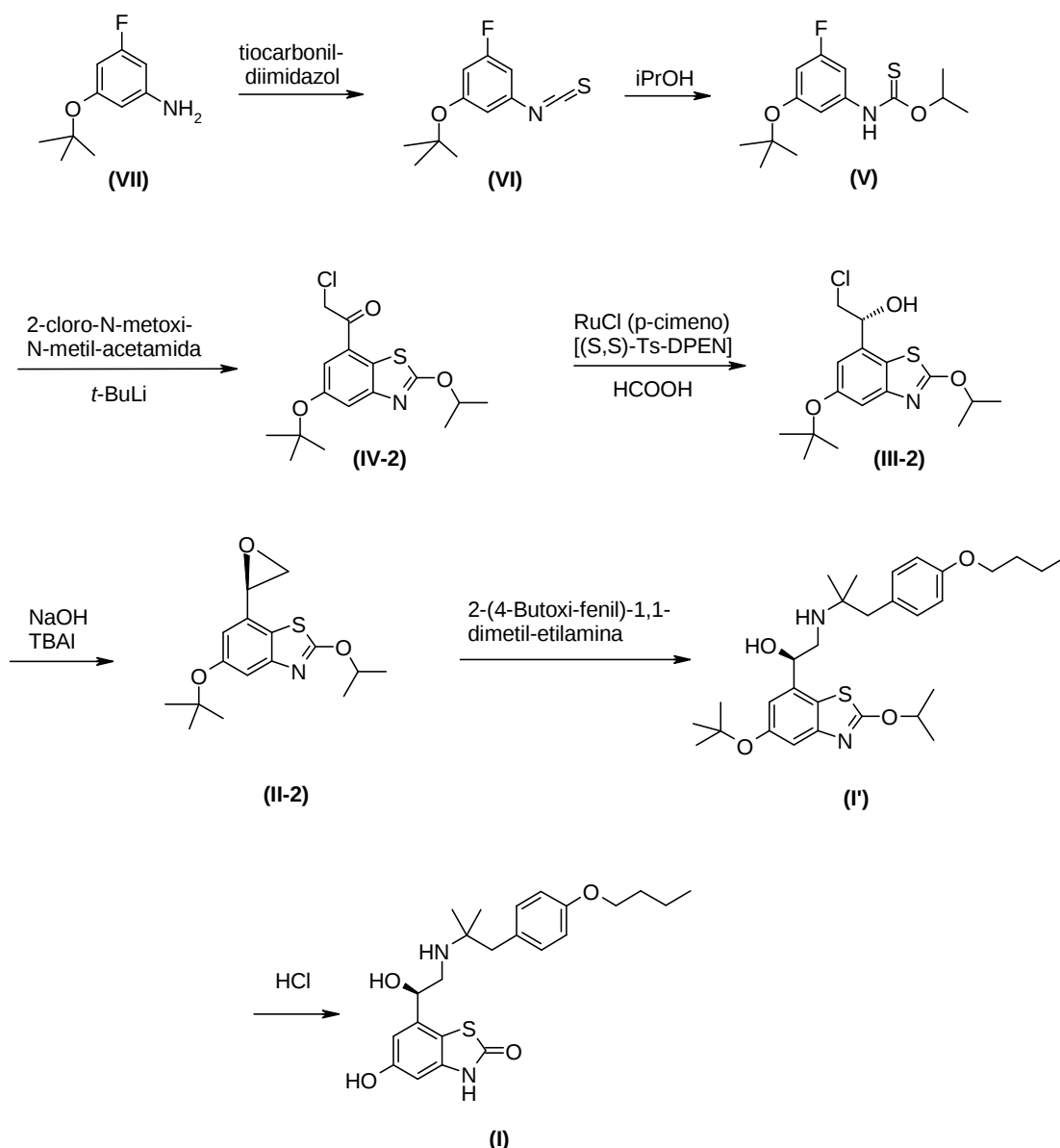
20 Este material se disolvió en 45 mililitros de acetonitrilo a 60°C. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 18 horas, después de lo cual, se presentó la precipitación. La mezcla se diluyó con 5 mililitros de acetonitrilo frío (4°C), y se filtró a través de un embudo Buchner. La torta 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.

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

$^1H$ -RMN: (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  (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).

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

**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

5 El 1,1'-tiocarbonil-diimidazol (423 gramos, 2.37 moles) se disolvió en dicloro-metano (DCM) (3200 mililitros). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> 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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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).

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.63-6.68 (m, 3 H), 1.37 (s, 9H).

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

15 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 N<sub>2</sub> 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-fluorofenil)-tiocarbámico (453.1 gramos).

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

- 5  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 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

- 10 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se agregó por goteo una solución de *tert*-butil-litio (481 mililitros, 737.6 milimoles, 1.6 M) a una solución del O-isopropil-éster del ácido (3-terbutoxi-5-fluorofenil)-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 *tert*-butil-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  $\text{NaHCO}_3$  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).

- 25  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 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

- 30 Una suspensión de la 1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzo-[d]-tiazol-7-il)-2-cloro-etanona (70 gramos, 204.8 milimoles), y  $\text{RuCl}(\text{p-cimeno})[(\text{S,S})\text{-Ts-DPEN}]$  (1.954 gramos, 3.07 milimoles) en metanol ( $\text{MeOH}$ )/*N,N*-dimetilformamida (DMF) (1,330 mililitros/70 mililitros) se desgasificó y se rellenó con  $\text{N}_2$  tres veces. Se agregó lentamente una mezcla preformada desgasificada de ácido fórmico (28.3 gramos) en  $\text{Et}_3\text{N}$  (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  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró al vacío, para dar el (*R*)-1-(5-terbutoxi-2-isopropoxi-benzotiazol-7-il)-2-cloro-etanol (72 gramos).

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

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 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

- 45 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 tetrabutilamonio (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.

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 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,  $J = \text{Hz}$ , 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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> = 431.2.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO- *d*<sub>6</sub>): 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

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

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

**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:** Sal de glicolato 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 suspendieron 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 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 60°C (temperatura de la camisa de 85°C), y se agregaron 90 miligramos de ácido 2-hidroxi-acético (1.161 milimoles) a la solución. Entonces se agregaron 0.25 mililitros de agua a una temperatura interna de 60°C. La solución se sembró con el glicolato 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 a una temperatura interna de 30°C, y se agitó durante la noche (16 h) a temperatura ambiente. Se agregaron otros 10 mililitros de acetonitrilo, y se agitaron durante el fin de semana a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a temperatura ambiente a través de un filtro de vidrio, y se lavó una vez con 1.0 mililitro de acetonitrilo/agua, 9:1 en volumen/volumen, y dos veces con 1.0 mililitro de acetonitrilo. Se secaron 320 miligramos de la torta del filtro húmeda en un horno de secado durante la noche (16 horas) a temperatura ambiente a sequedad.

Preparación de la siembra de glicolato 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 disolvieron 63.0 miligramos (0.146 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 11.24 miligramos (0.146 milimoles) de ácido glicólico 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 suspensión 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: 52 miligramos de un polvo blanco

**Ejemplos 5, 6 y 7:** 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 y sus formas de sales de acetato y glicolato

El análisis de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) de la base libre 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 y sus formas de sales de acetato y glicolato se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones experimentales:

| Método de XRPD |                               |
|----------------|-------------------------------|
| Instrumento    | Bruker D8 Advance (reflexión) |

| Método de XRPD        |                             |
|-----------------------|-----------------------------|
| Irradiación           | CuK $\alpha$ (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)      |

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     |

**5 Ejemplo 5:** Análisis de 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

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 recrystalizó como se describe a continuación, antes del análisis de difracción en polvo de rayos-X (XRPD).

- 10 Se suspendieron 4.0 gramos (2.232 milimoles) 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 24.0 mililitros de acetato de etilo en un matraz de cuatro cuellos de 100 mililitros, y se agitaron con aspas a temperatura ambiente. La suspensión se disolvió a una temperatura interna de 70°C (temperatura de la camisa de 90°C), para proporcionar una solución amarilla transparente. La solución se enfrió durante 30 minutos a temperatura ambiente, y se sembró con la base libre
- 15 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 a una temperatura interna de 35°C (en donde la cristalización tuvo lugar muy lentamente), y se agitó durante la noche (16 horas) a temperatura ambiente. La solución entonces se filtró a temperatura ambiente a través de un filtro de vidrio (filtración rápida, duración: <1 minutos), y se lavó 3 veces con 2.0 mililitros de acetato de

etilo (licor madre color amarillo transparente). Se secaron 5.82 gramos de la torta del filtro húmeda en un horno de secado durante la noche (16 horas) a temperatura ambiente y durante 16 horas a 40°C. Rendimiento: 3.63 gramos de un polvo blanco (90.75 %).

- 5 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 5). De éstos, los picos a 8.5, 13.3, 13.9, 14.4, 15.2, 17.2, 17.5, 18.1, 21.3 y 22.5° 2-theta son los más característicos.

| Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad | Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad |
|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| 8.5                   | media      | 21.7                  | alta       |
| 11.4                  | media      | 22.5                  | alta       |
| 12.7                  | media      | 23.3                  | alta       |
| 13.3                  | media      | 23.6                  | media      |
| 13.9                  | media      | 24.4                  | media      |
| 14.4                  | media      | 25.6                  | media      |
| 15.2                  | media      | 26.1                  | alta       |
| 17.2                  | alta       | 26.6                  | alta       |
| 17.5                  | alta       | 27.9                  | media      |
| 18.1                  | alta       | 28.5                  | media      |
| 21.3                  | media      | 28.9                  | media      |

- 10 La base libre 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 un establecimiento de punto de fusión a aproximadamente 115°C.

**Ejemplo 6:** 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

- 15 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<br>(2-Theta °) | Intensidad | Ángulo<br>(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 endoterma alrededor de 170°C.

- 5 **Ejemplo 7:** Análisis de XRPD de la sal de glicolato 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

La sal de glicolato 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 7). De éstos, los picos en 8.7, 11.6, 16.1, 18.0, 19.8, 20.7, y 21.1° 2-theta son los más característicos.

10

| Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad | Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad |
|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| 8.7                   | alta       | 22.6                  | baja       |
| 11.6                  | media      | 23.1                  | media      |
| 16.1                  | alta       | 23.3                  | media      |
| 17.4                  | media      | 23.7                  | baja       |

| Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad | Ángulo<br>(2-Theta °) | Intensidad |
|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| 18.0                  | alta       | 26.2                  | alta       |
| 19.2                  | media      | 26.8                  | media      |
| 19.8                  | alta       | 27.9                  | baja       |
| 20.7                  | alta       | 28.3                  | baja       |
| 21.1                  | alta       |                       |            |

La sal de glicolato 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 un establecimiento de punto de fusión a aproximadamente 188°C.

- 5 **Ejemplo 8:** Método para la preparación de una formulación farmacéutica adecuada para la administración subcutánea del compuesto A en una forma de sal de acetato

Para una solución de 1.00 litro de producto de fármaco, se colocan aproximadamente 900 gramos de agua para inyecciones en un recipiente limpio adecuado para la elaboración farmacéutica. Se agregan 50 gramos de manitol, 0.60 gramos de ácido acético, y 10 gramos de alcohol bencílico, y se disuelven en el agua para inyecciones. Entonces se agrega 1.00 gramo del compuesto A, y se disuelve. El pH se ajusta hasta el valor objetivo, por ejemplo, 5.0, con una solución de hidróxido de sodio 1N. Entonces se agrega agua para inyecciones a la solución del producto objetivo, peso de 1.016 kilogramos. La solución del producto de fármaco se filtra para esterilizarse a través de una membrana de PVDF de 0.22 micras en frascos lavados y despirogenizados, se cierran con tapones de caucho estériles, y se traban. Los frascos se esterilizan terminalmente mediante su paso por autoclave.

**Ejemplo 8a:** Método alternativo para la preparación de una formulación farmacéutica adecuada para la administración subcutánea del compuesto A en una forma de sal de acetato

Para una solución de 1.00 litro de producto de fármaco, se colocan aproximadamente 900 gramos de agua para inyecciones en un recipiente limpio adecuado para la elaboración farmacéutica. Se agregan 50 gramos de manitol y 10 gramos de alcohol bencílico, y se disuelven en el agua para inyecciones. Entonces se agregan 1.14 gramos de la sal de acetato del compuesto A, y se disuelven. El pH se ajusta al valor objetivo, por ejemplo, 5.0, con una solución de ácido acético. Entonces se agrega agua para inyecciones a la solución del producto objetivo, peso de 1.016 kilogramos. La solución del producto de fármaco se filtra para esterilizarse a través de una membrana de PVDF de 0.22 micras en frascos lavados y despirogenizados, se cierran con tapones de caucho estériles, y se traban. Los frascos se esterilizan terminalmente mediante su paso por autoclave.

**Ejemplo 9:** Solubilidades comparativas de las formas de base libre, de sal de acetato, y de sal de glicolato del compuesto A

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 <sub>2</sub> O |                | Solubilidad de sal de acetato del Compuesto A en H <sub>2</sub> O |                | Solubilidad de sal de glicolato del Compuesto A en H <sub>2</sub> 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 10:** Perfiles celulares *in vitro* del compuesto de la invención (Compuesto A), su enantiómero (Compuesto B), su racemato (Compuesto A/B), y formoterol

El compuesto de la invención (Compuesto A) muestra los siguientes valores EC<sub>50</sub> en la Prueba 1 como se describe anteriormente en la presente.

5

| Compuestos                   | Células CHO <sup>#</sup><br>EC <sub>50</sub> (E <sub>max</sub> %) |                                |                    | Células primarias; respuesta cAMP, EC <sub>50</sub><br>(E <sub>max</sub> %) |                               |                                |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                              | β <sub>2</sub> AR                                                 | β <sub>1</sub> AR              | α <sub>1A</sub> AR | skMC de Humano                                                              | skMC de Rata                  | Cardiomiocitos de Rata         |
| Formoterol                   | 0.7 nM<br>(99% <sup>**</sup> )                                    | 85 nM<br>(86% <sup>**</sup> )  | 190 nM             | 0.2 nM                                                                      | 0.9 nM                        | 2.9 nM                         |
| Compuesto A (R)              | 5.6 nM<br>(88% <sup>**</sup> )                                    | 560 nM<br>(32% <sup>**</sup> ) | > 10 μM            | 0.7 nM<br>(96% <sup>*</sup> )                                               | 3.4 nM<br>(98% <sup>*</sup> ) | 5.7 nM<br>(71% <sup>**</sup> ) |
| Compuesto B (S)              | 950 nM<br>(83% <sup>**</sup> )                                    | > 10 μM                        | > 30 μM            | 280 nM<br>(100% <sup>*</sup> )                                              | n.d.                          | n.d.                           |
| Compuesto A/B                | 11 nM<br>(87% <sup>**</sup> )                                     | 684 nM<br>(38% <sup>**</sup> ) | n.d.               | 0.63 nM<br>(100% <sup>*</sup> )                                             | n.d.                          | n.d.                           |
| Sal de acetato del Compuesto | 2.5 nM                                                            | n.d.                           | n.d.               | 1.7 nM                                                                      | n.d.                          | n.d.                           |

| Compuestos                                                                                                                                                                                       | Células CHO <sup>#</sup><br>EC <sub>50</sub> (E <sub>max</sub> %) |       |        | Células primarias; respuesta cAMP, EC <sub>50</sub><br>(E <sub>max</sub> %) |              |                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------|--------|-----------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------|
|                                                                                                                                                                                                  | β2 AR                                                             | β1 AR | α1A AR | skMC de Humano                                                              | skMC de Rata | Cardiomiocitos de Rata |
| A (R)                                                                                                                                                                                            | (91%**)                                                           |       |        | (93%**)                                                                     |              |                        |
| skMC: miotubos esqueléticos diferenciados;<br>*: comparándose con formoterol;<br>**: comparándose con isoprenalina;<br>#: cAMP para β1 y β2, Ca <sup>2+</sup> para α1A;<br>n.d.: no determinado. |                                                                   |       |        |                                                                             |              |                        |

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 EC<sub>50</sub> de 950 nM.

**5 Ejemplo 11:** Efectos del Formoterol y el Compuesto A sobre el peso del músculo esquelético y del corazón *in vivo*

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 eutanizaron con CO<sub>2</sub>, 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                                |
|-------|-------------|---------------|------|----------------------------------------|
| 1     | Vehículo*   | 0             | s.c. | Minibomba Alzet 2ML4 durante 4 semanas |
| 2     | Formoterol  | 0.003         |      |                                        |
| 3     | Formoterol  | 0.01          |      |                                        |

| Grupo                                                                        | Tratamiento | Dosis (mg/kg) | Vía | Régimen |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------|-----|---------|
| 4                                                                            | Formoterol  | 0.03          |     |         |
| * Vehículo: 20%, 1:2 de 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 %). |             |               |      |                                        |

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 12:** 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

15 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.).

20 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 O<sub>2</sub> al 95 %, CO<sub>2</sub> 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  $\pm$  SEM.

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.

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

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

|                                                                                                                                    | Formoterol | Compuesto A  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------------|
| Contracción de aurícula izquierda EC <sub>50</sub> (n=2)                                                                           | 17 nM      | > 10 $\mu$ M |
| 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 $\pm$ SEM; Nódulo sino-auricular (n = 6), corazón aislado (n = 3). |            |              |

#### **Ejemplo 13:** Efectos del Formoterol y del Compuesto A sobre la frecuencia cardíaca *in vivo*

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).

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

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).

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 15:** Efecto del Compuesto A, su enantiómero (Compuesto B), y su racemato (Compuesto A/B) sobre el receptor de Serotonina 5-HT<sub>2C</sub>

Se utilizan membranas celulares de CHO de hr5-HT<sub>2C</sub> recombinantes humanas (Biosignal Packard, EUA), y <sup>3</sup>H-Mesulergina (NEN Life Science Products, EUA, 1 nM) para medir la afinidad de enlace de los compuestos con el receptor 5-HT<sub>2C</sub> humano. El enlace no específico se evalúa en la presencia de Mesulergina 1 µM. 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 µM, 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.

Las células CHO-K1 que co-expresaban la apoecucorina mitocondrial, el 5-HT<sub>2Cne</sub> de serotonina recombinante, y la proteína-G promiscua G<sub>α16</sub>, 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 10<sup>6</sup> células/mililitro. Las células se incubaron a temperatura ambiente durante cuando menos 4 horas con coelenterazina h. El agonista de referencia fue el a-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 EC<sub>100</sub>.

| 5-HT <sub>2C</sub> de Serotonina | Enlace | CHO EC <sub>50</sub><br>(E <sub>max</sub> %) |
|----------------------------------|--------|----------------------------------------------|
| 5-HT                             | n.d.   | 0.24 nM                                      |
| Compuesto A (R)                  | 11 µM  | 280 nM (83%)                                 |
| Compuesto B (S)                  | 0.8 µM | 19.7 nM (99%)                                |
| Compuesto A/B                    | 1.7 µM | 25 nM (113%)                                 |

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

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

**REIVINDICACIONES**

1. Una forma cristalina de sal de acetato de (*R*)-7-(2-(1-(4-butoxifenil)-2-metilpropan-2-ilamino)-1-hidroxietil)-5-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.
- 5 2. Una forma cristalina de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende tres picos que tienen valores de ángulo de refracción 2 theta ( $\theta$ ) seleccionados de  $8.8 \pm 0.2^\circ$ ,  $16.4 \pm 0.2^\circ$ ,  $20.8 \pm 0.2^\circ$  cuando se mide utilizando la radiación  $\text{CuK}\alpha$ .
3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
- 10 4. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 y uno o más coagentes terapéuticamente activos.
5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso como un medicamento.
6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para uso en el tratamiento o prevención de enfermedades que debilitan los músculos.
- 15 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la enfermedad que debilita los músculos se selecciona de distrofia muscular, atrofia relacionada con el desuso, caquexia o sarcopenia.

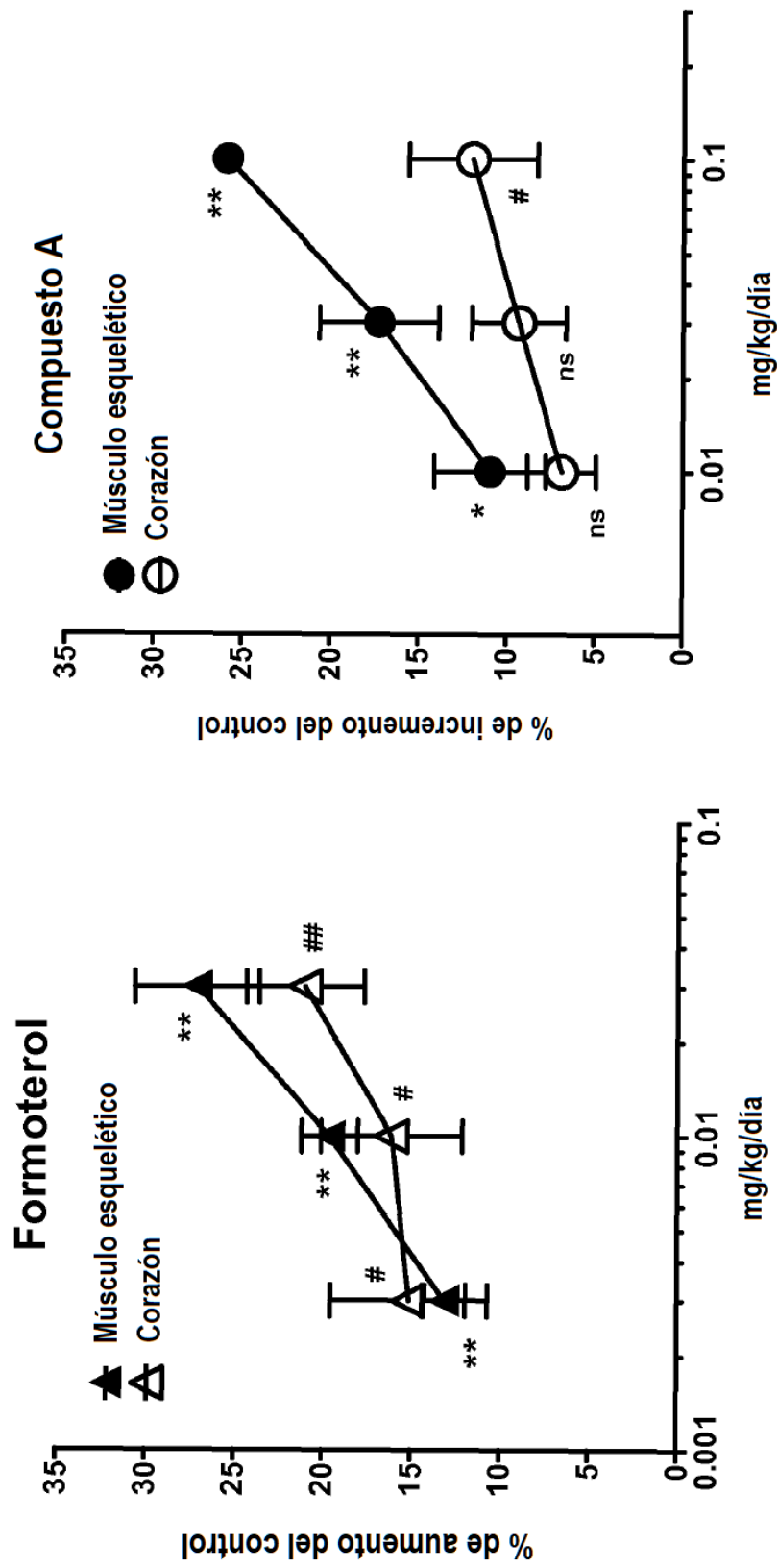


FIG 1

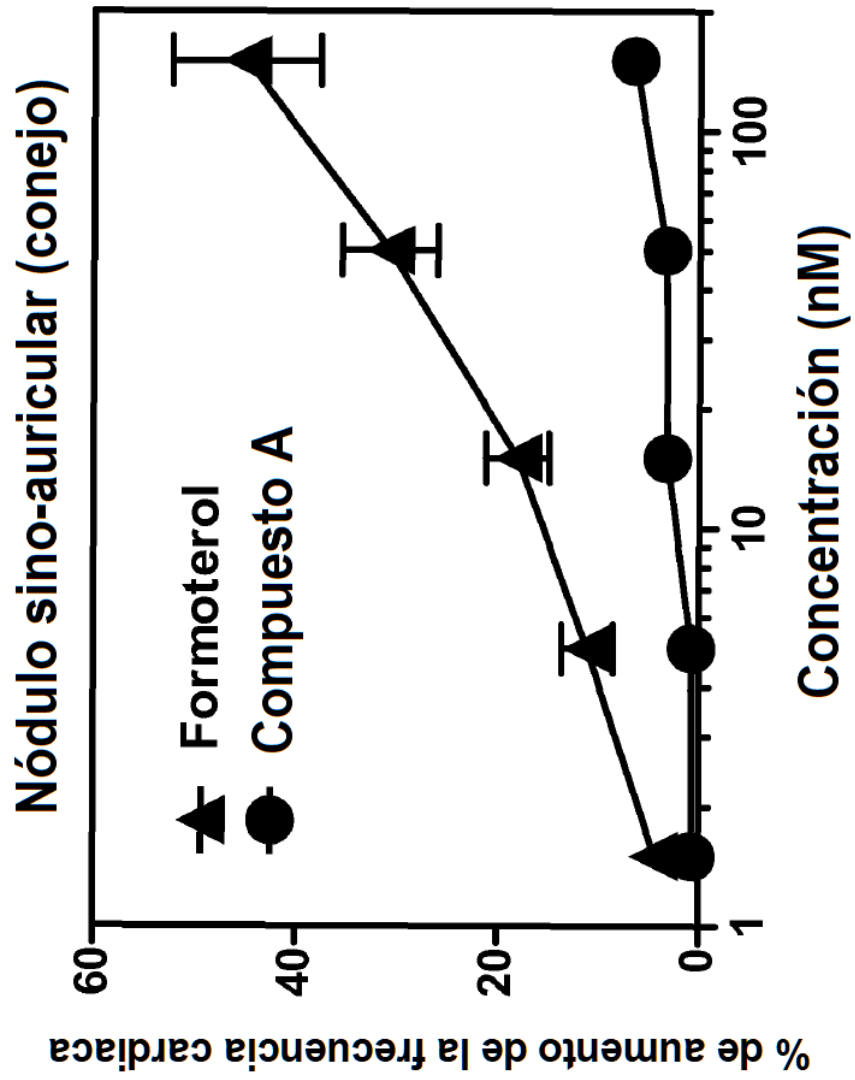


FIG 2a

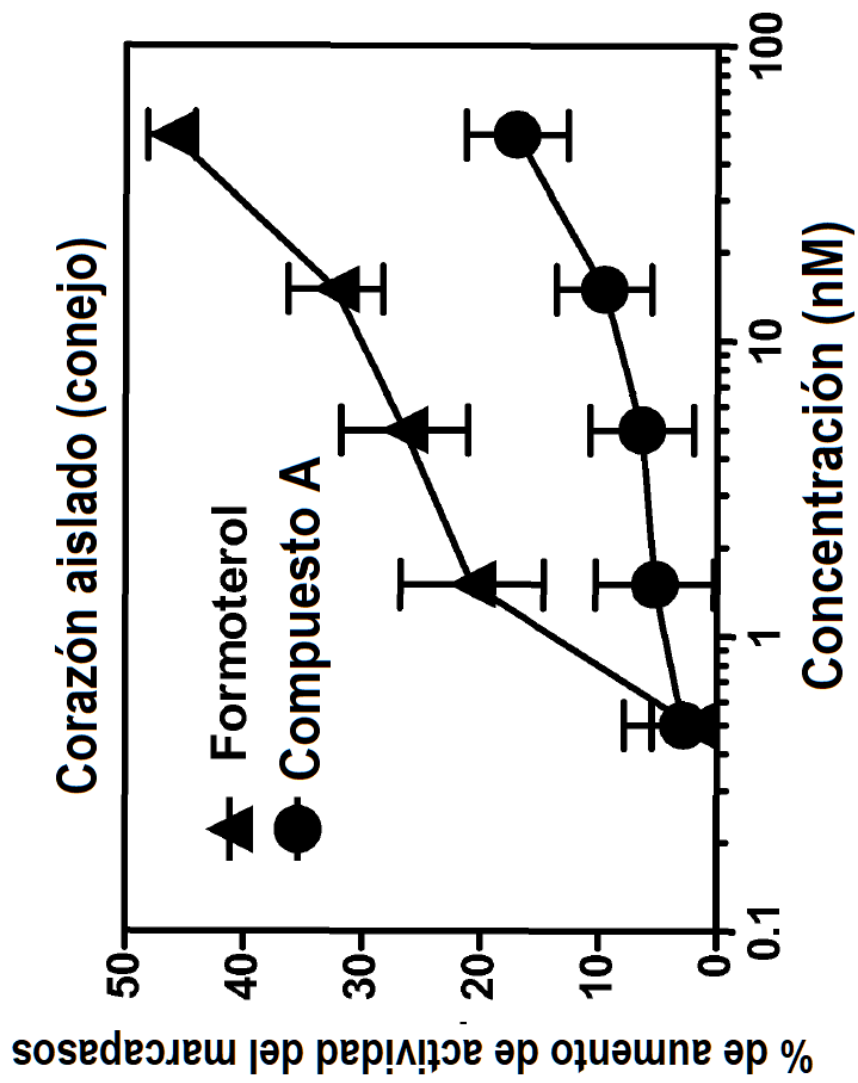


FIG 2b

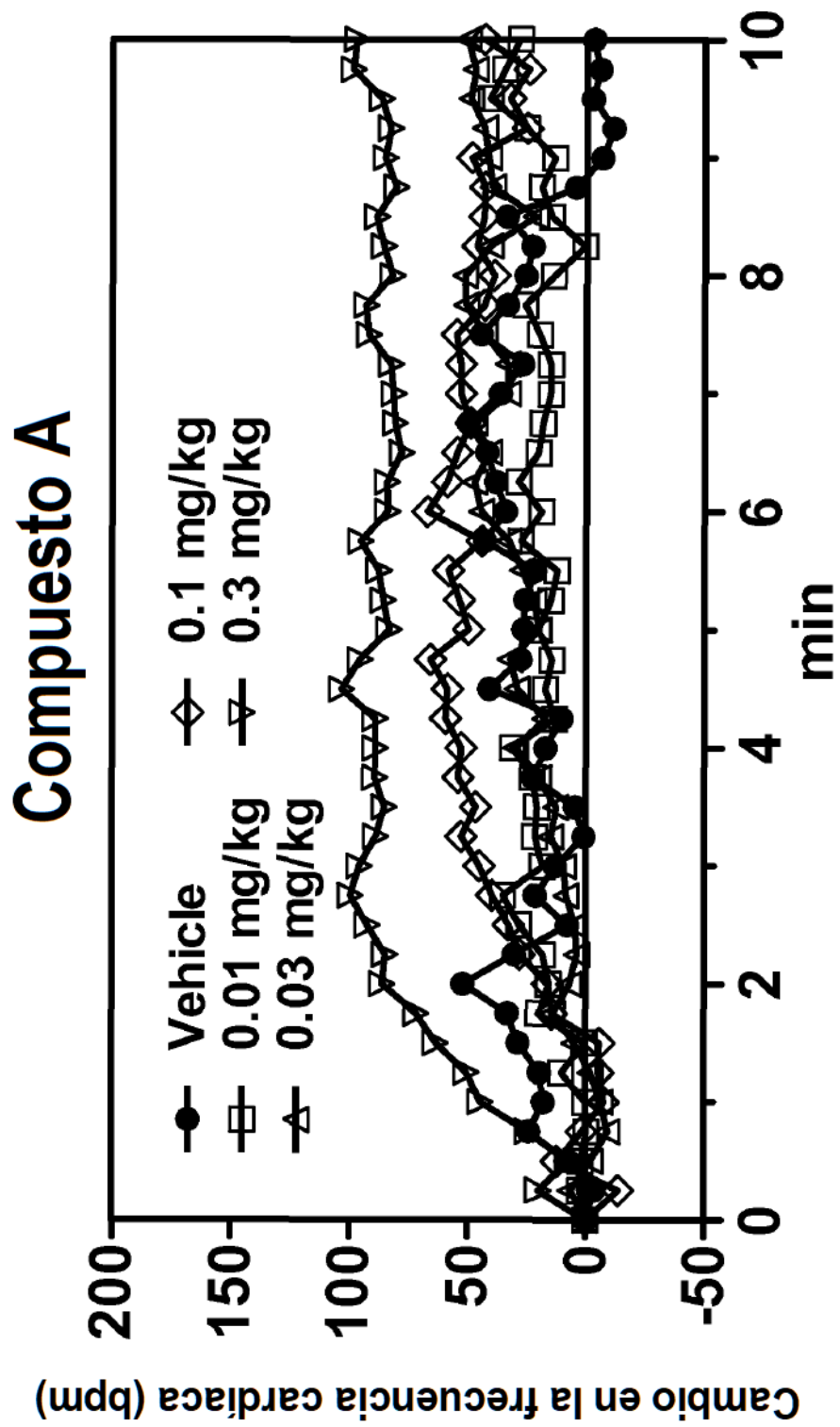


FIG 3a

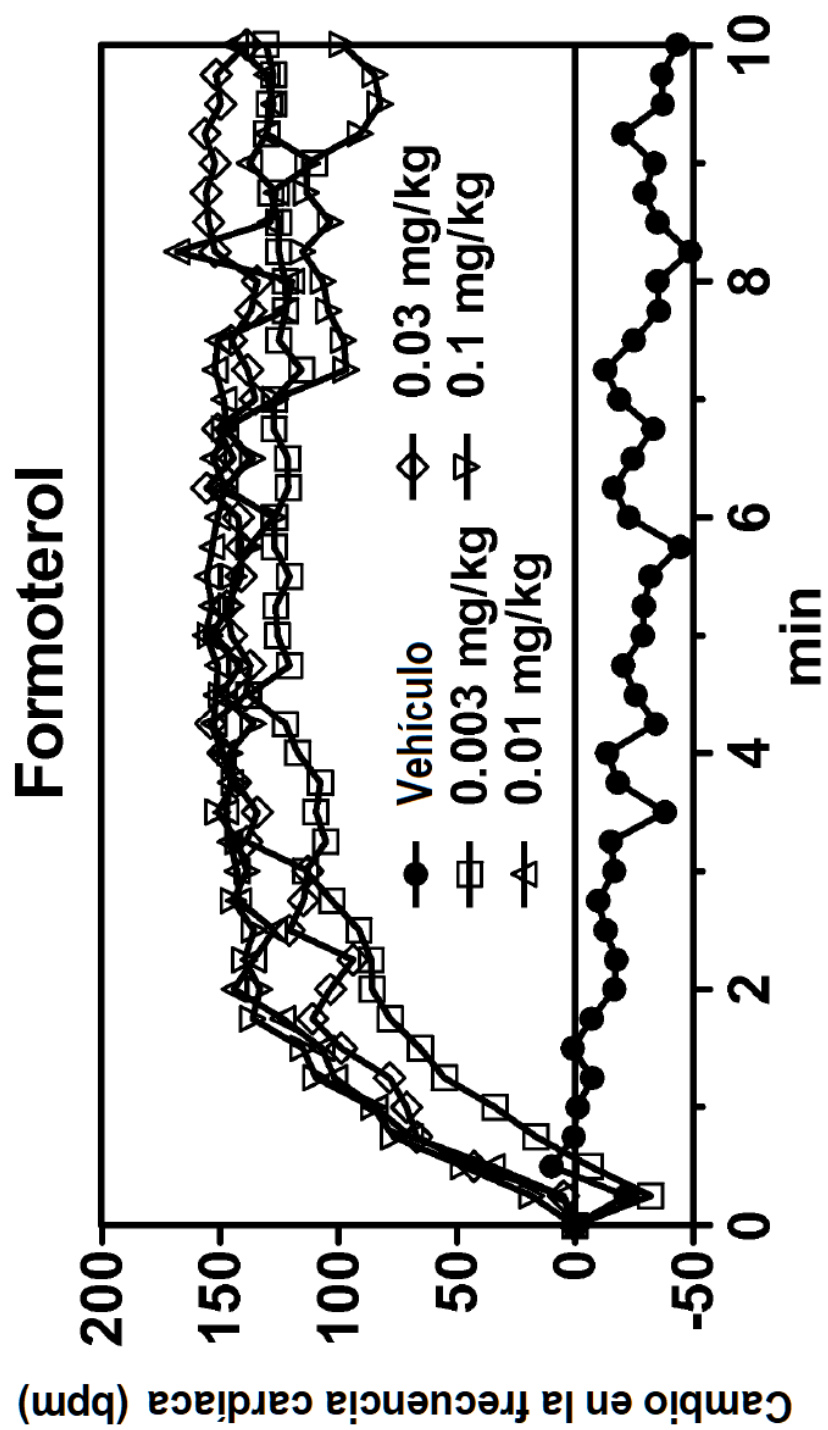


FIG 3b

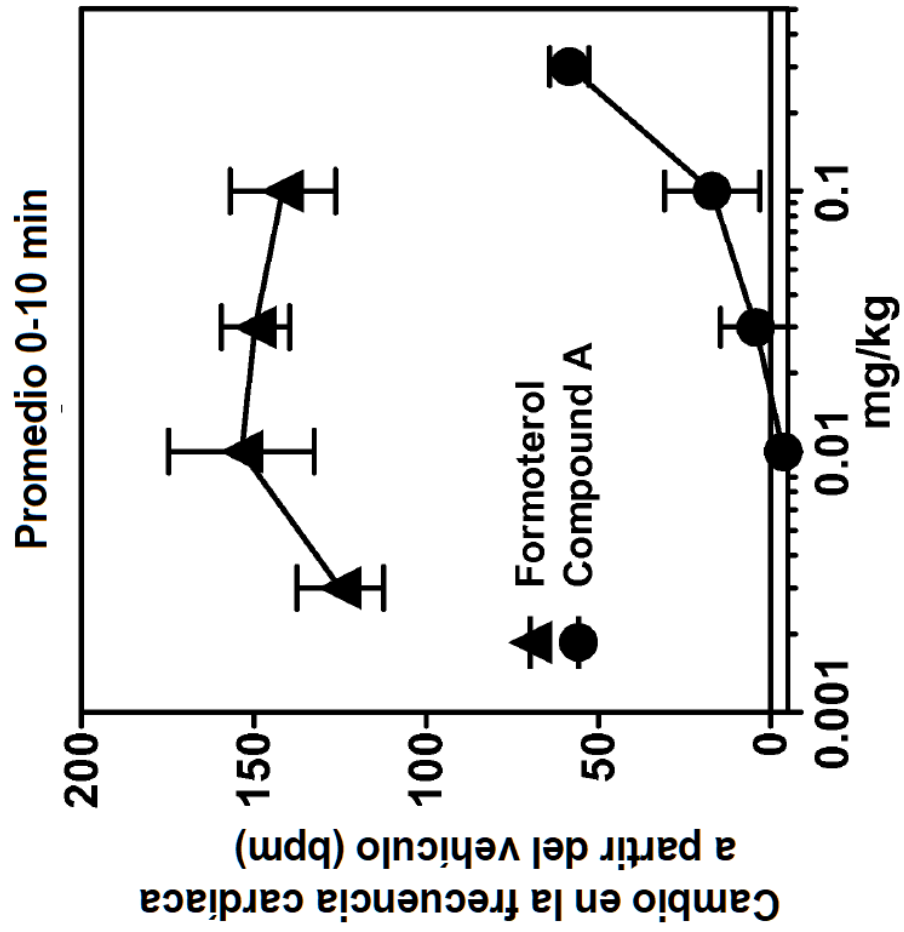


FIG 3c

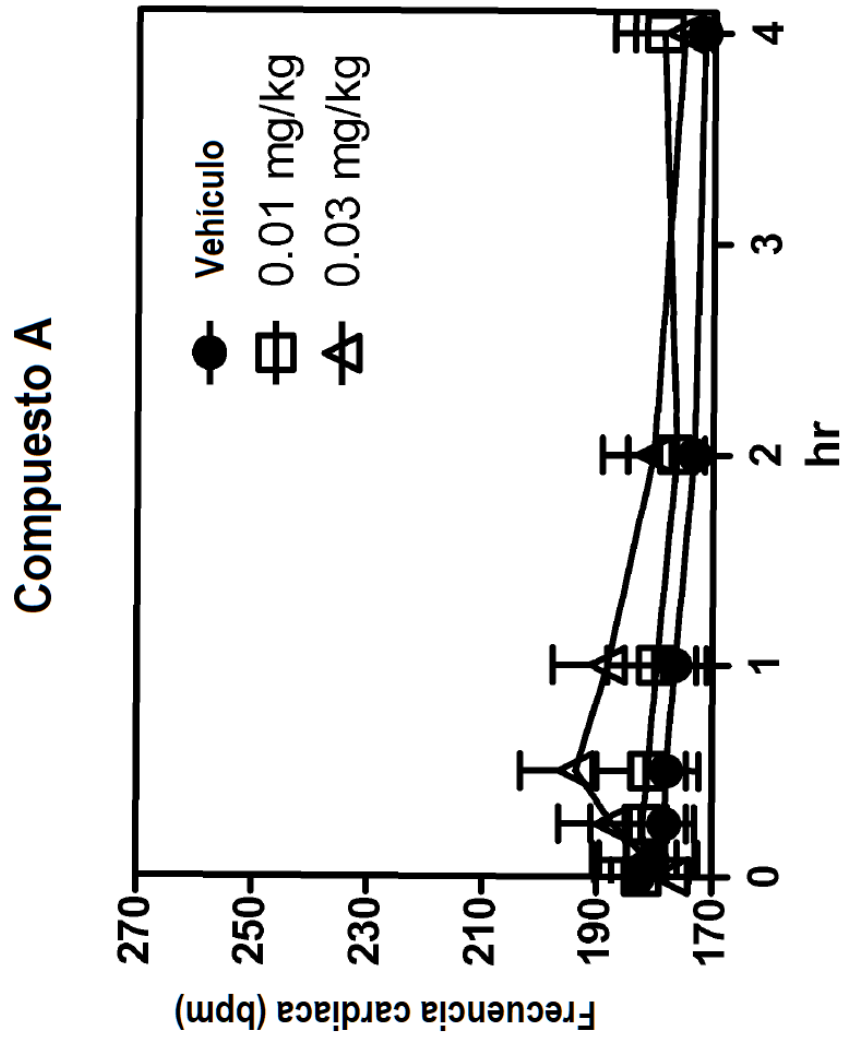


FIG 4a

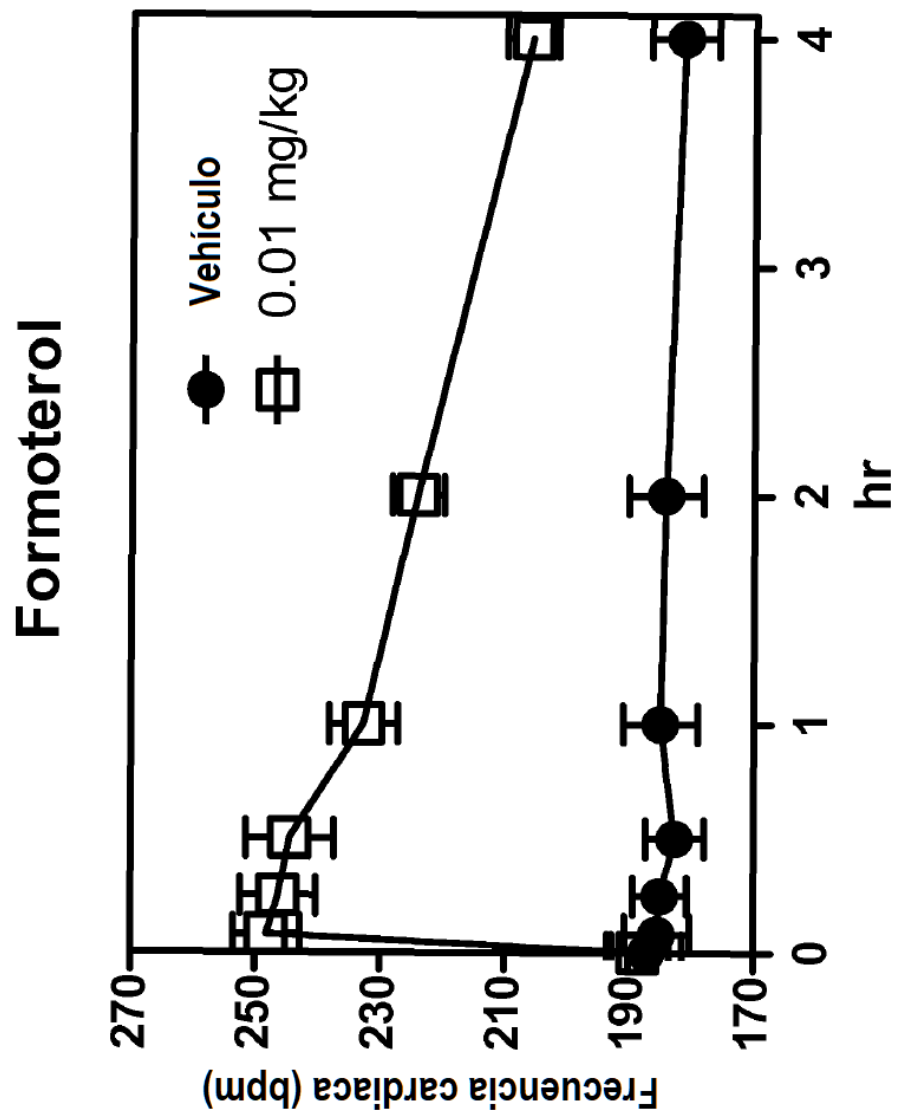
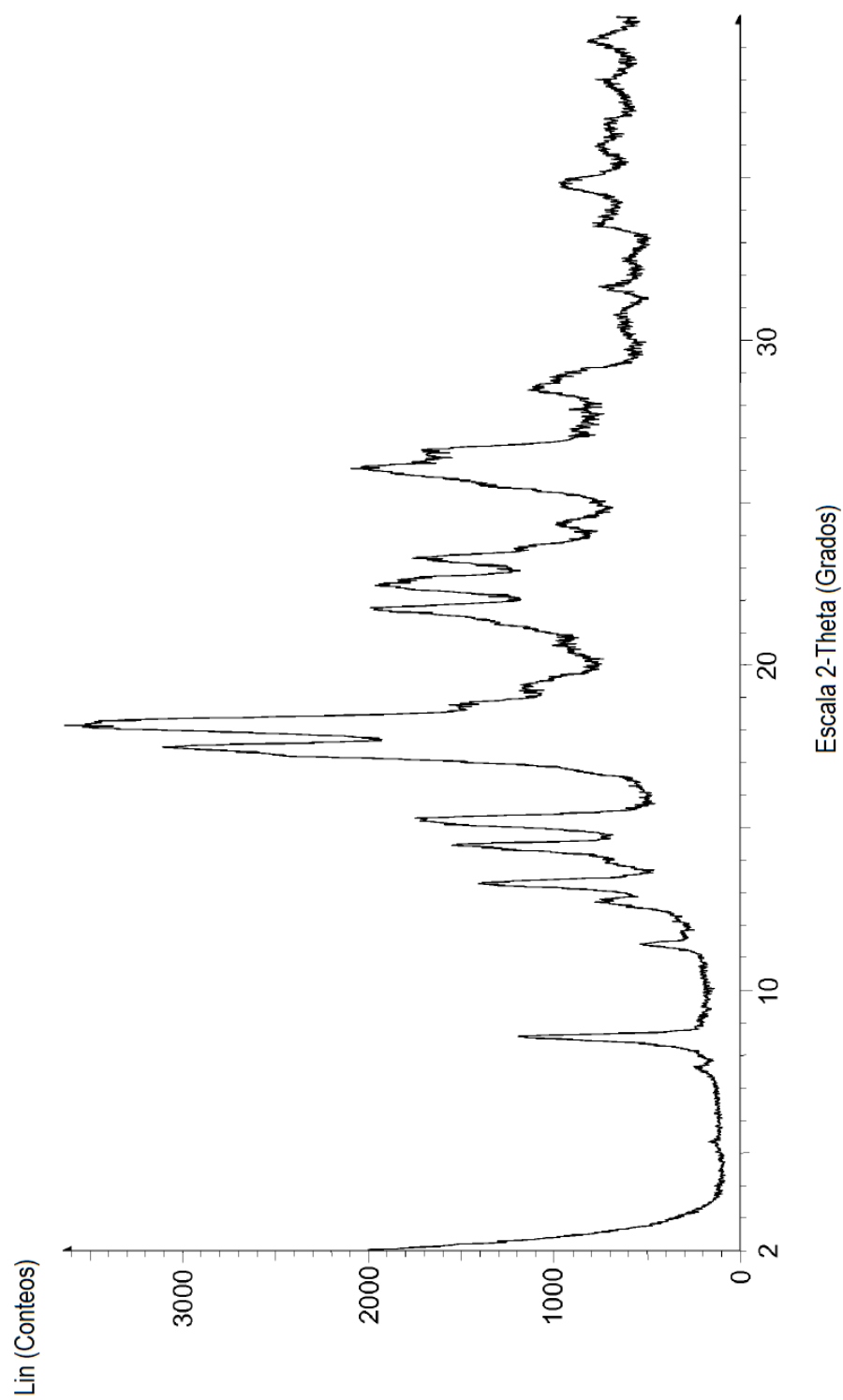


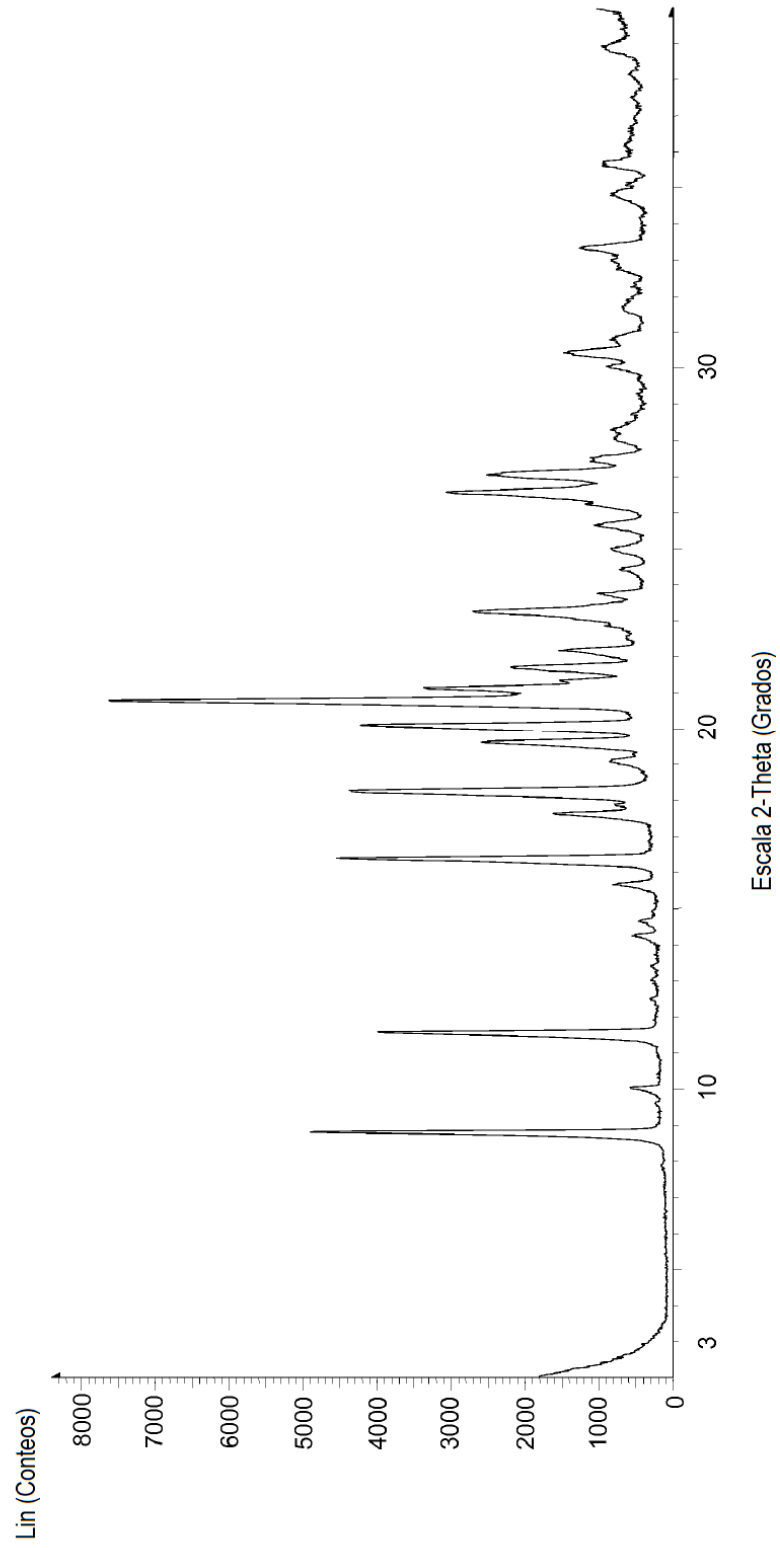
FIG 4b

Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la base libre cristalina del Compuesto A



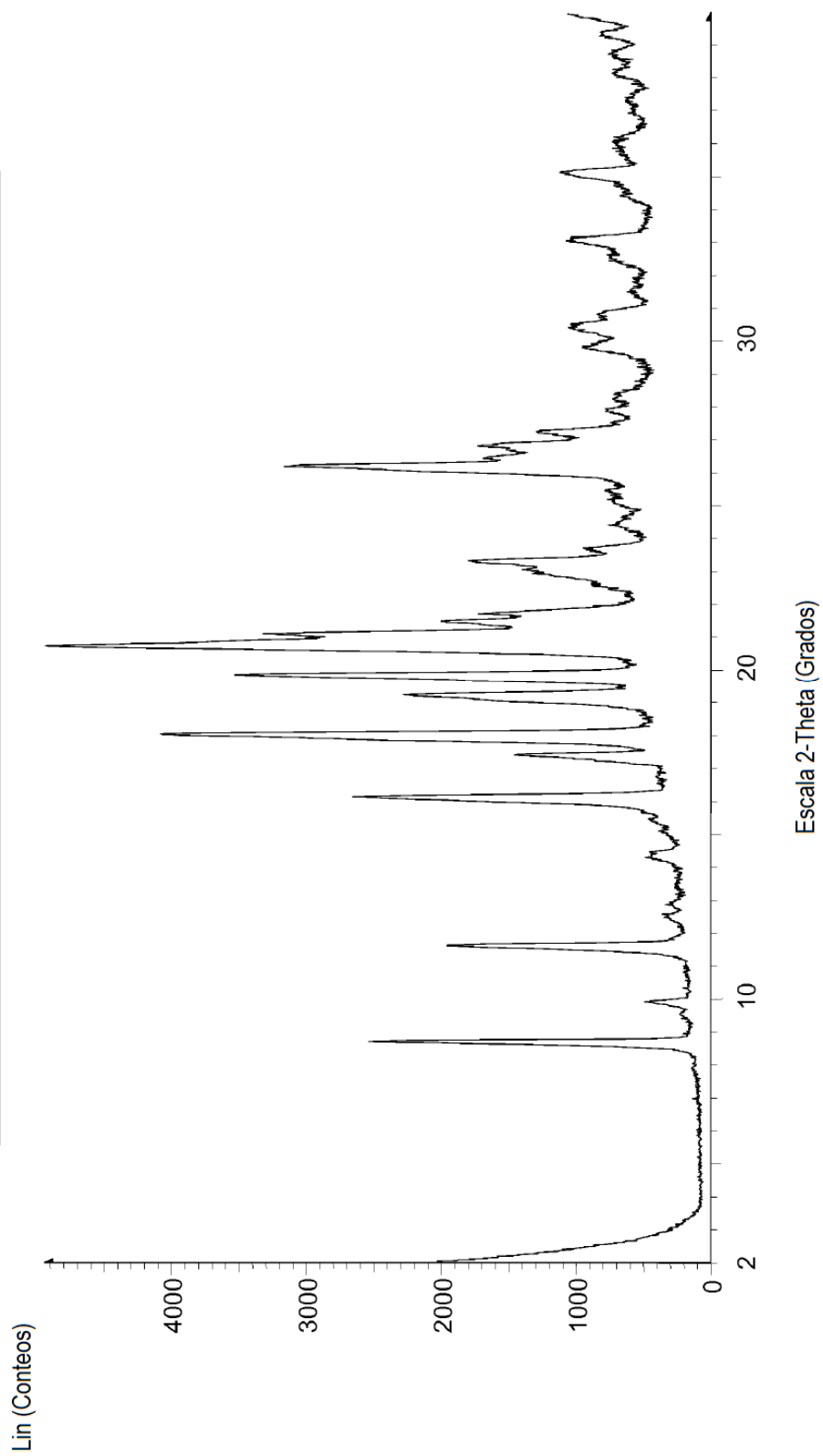
**FIG 5**

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



**FIG 6**

Patrón de difracción en polvo de rayos-X de la sal de glicolato cristalina del compuesto A



**FIG 7**