

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 475**

51 Int. Cl.:

C07D 403/14 (2006.01)

A61K 31/4192 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.12.2014 PCT/IB2014/066508**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015 WO15083070**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2014 E 14824107 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 3077389**

54 Título: **Forma cristalina de (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona y su uso como antagonistas del receptor de orexina**

30 Prioridad:
03.12.2013 WO PCT/IB2013/060596

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.01.2018

73 Titular/es:
**IDORSIA PHARMACEUTICALS LTD (100.0%)
Hegenheimermattweg 91
4123 Allschwil, CH**

72 Inventor/es:
**BOSS, CHRISTOPH;
BROTSCHI, CHRISTINE;
GUDE, MARKUS;
HEIDMANN, BIBIA;
SIFFERLEN, THIERRY;
VON RAUMER, MARKUS y
WILLIAMS, JODI, T.**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Francisco

ES 2 651 475 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

Forma cristalina de (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona y su uso como antagonistas del receptor de orexina

5 La invención se refiere a formas cristalinas novedosas de (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona (en lo sucesivo en el presente documento también denominado "COMPUESTO"), procesos para la preparación de las mismas, composiciones farmacéuticas que comprenden dichas formas cristalinas, composiciones farmacéuticas preparadas a partir de tales formas cristalinas, y dichas composiciones para su uso como antagonistas del receptor de orexina en el tratamiento o prevención de trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, o trastornos del apetito.

10 Las Orexinas (orexina A o OX-A y orexina B o OX-B) son neuropéptidos encontrados en 1998 por dos grupos de investigadores, orexina A es un péptido de 33 amino ácidos y orexina B es un péptido de 28 amino ácidos (Sakurai T. y col., Cell, 1998, 92, 573-585). Las Orexinas son producidas en neuronas discretas del hipotálamo lateral y se unen a receptores acoplados a proteínas G (receptores OX<1< y OX<2<). El receptor de orexina-1 (OX<1<) es selectivo por OX-A, y el receptor de orexina-2 (OX<2<) es capaz de unirse a OX-A, así como también a OX-B. Los antagonistas del receptor de orexina son un tipo novedoso de fármacos del sistema nervioso o psicotrópicos. Su modo de acción en animales y serse humanos implica el bloqueo tanto de receptores de orexina-1 como orexina-2 (antagonistas duales), o el bloqueo individual y selectivo del receptor de orexina-1 u orexina-2 (antagonistas selectivos) en el cerebro. Las Orexinas se encontraron inicialmente para estimular el consumo de alimentos en ratas sugiriendo un rol fisiológico para estos péptidos como mediadores en el mecanismo de regulación central que regula el comportamiento de alimentación (Sakurai T. y col., Cell, 1998, 92, 573-585).

15 Por otro lado, los neuropéptidos de orexina y los receptores de orexina juegan un rol esencial y central en la regulación de los estados de vigilancia circadiana. En el cerebro, las neuronas orexinas recolectan una entrada sensorial sobre estados internos y externos y envían proyecciones axonales intrahipotalámicas cortas así como también proyecciones largas a muchas otras partes del cerebro. La distribución particular de las fibras y receptores de orexina en el prosencéfalo basal, estructuras límbicas y regiones del tallo cerebral - las áreas relacionadas con la regulación del despertar, sueño y reactividad emocional - sugiere que las orexinas ejercen funciones esenciales como reguladores de conductas de excitación; al activar el disparo de las células que promueven el despertar, las orexinas contribuyen a orquestrar todos los sistemas de excitación cerebral que regulan la actividad circadiana, el balance de energía y la reactividad emocional. Esta función abre una gran cantidad de oportunidades terapéuticas para abordar médicamente numerosos trastornos de salud mental posiblemente relacionados con disfunciones orexinérgicas [véase, por ejemplo: Tsujino N y Sakurai T, "Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward systems", Pharmacol Rev. 2009, 61:162-176; y Carter ME y col., "The brain hypocretins and their receptors: mediators of allostatic arousal", Curr Op Pharmacol. 2009, 9: 39-45] que se describen en las siguientes secciones. También se observó que las orexinas regulan los estados del sueño y vigilia abriendo enfoques terapéuticos potencialmente novedosos para el insomnio y otros trastornos del sueño (Chemelli R.M. y col., Cell, 1999, 98, 437-451).

20 La memoria humana está compuesta por múltiples sistemas que tienen diferentes principios de operación y diferentes sustratos neuronales subyacentes. La principal diferencia es entre la capacidad de memoria consiente declarativa y un conjunto de capacidades de memoria no declarativa inconsciente. La memoria declarativa se encuentra además subdividida en memoria semántica y episódica. La memoria no declarativa se encuentra además subdividida en aprendizaje de primado y perceptual, memoria procedimental para las habilidades y hábitos, aprendizaje asociativo y no asociativo, y algunos otros. Mientras que la memoria semántica se refiere al conocimiento general sobre el mundo, la memoria episódica es la memoria autobiográfica de los eventos. La memoria procedimental se refiere a la capacidad de realizar operaciones en base a habilidades, como por ejemplo habilidades motoras. La memoria a largo plazo es establecida durante un proceso de múltiples etapas a través de cambios graduales involucrando diversas estructuras cerebrales, empezando con el aprendizaje, o adquisición de la memoria, o formación. Posteriormente, la consolidación de lo que ha sido aprendido puede estabilizar las memorias. Cuando las memorias de largo plazo son recuperadas, estas pueden volver a un estado lábil en el que el contenido original puede ser actualizado, modulado o interrumpido. Posteriormente, la reconsolidación puede estabilizar las memorias nuevamente. En una etapa tardía, la memoria a largo plazo puede ser resistente a la interrupción. La memoria a largo plazo es conceptualmente y anatómicamente diferente a la memoria de trabajo, donde esta última es la capacidad de mantener temporalmente una cantidad limitada de información en mente. La investigación en comportamiento ha sugerido que el cerebro humano consolida la memoria a largo plazo en ciertos intervalos de tiempo clave. La fase inicial de la consolidación de la memoria puede ocurrir en los primeros minutos después de la exposición a una idea o experiencia de aprendizaje nueva. La siguiente fase y, posiblemente la más importante, puede ocurrir durante un largo periodo de tiempo, tal como durante el sueño; de hecho, se ha sugerido que ciertos procesos de consolidación son dependientes del sueño[R. Stickgold y col., Sleep-dependent memory consolidation; Nature 2005,437, 1272-1278]. Se cree que los procesos de aprendizaje y memoria son afectados fundamentalmente en una variedad de trastornos neurológicos y mentales, tal como por ejemplo retraso mental, enfermedad de Alzheimer o depresión. De hecho, la pérdida de memoria o dificultad para la adquisición de memoria es una característica de tales enfermedades, y aún no han aparecido terapias eficaces para prevenir este proceso dañino.

Además, la evidencia tanto anatómica como funcional de los estudios *in vitro* e *in vivo* sugieren una interacción positiva importante del sistema de orexina endógeno con las vías de recompensa del cerebro [Aston-Jones G et al., *Brain Res* 2010, 1314, 74-90; Sharf R et al., *Brain Res* 2010, 1314, 130-138]. El bloqueo de OXR-1 farmacológico selectivo reduce la reincorporación de búsqueda de cocaína inducido por una señal y por estrés [Boutrel B, et al., "Role for hypocretin in mediating stress-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior". *Proc Natl Acad Sci* 2005, 102(52), 19168-19173; Smith RJ et al., "Orexin/hypocretin signaling at the orexin 1 receptor regulates cue-elicited cocaine-seeking". *Eur J Neurosci* 2009, 30(3), 493-503; Smith RJ et al., "Orexin/hypocretin is necessary for context-driven cocaine-seeking". *Neuropharmacology* 2010, 58(1), 179-184], la reincorporación inducida por una señal de la búsqueda de alcohol [Lawrence AJ et al., *Br J Pharmacol* 2006, 148(6), 752-759] y la auto-administración de nicotina [Hollander JA et al., *Proc Natl Acad Sci* 2008, 105(49), 19480-19485; LeSage MG et al., *Psychopharmacology* 2010, 209(2), 203-212]. El antagonismo de los receptores de la Orexin-1 también atenúan la expresión de CPP inducido por amfetamina y cocaína [Gozzi A et al., *PLoS One* 2011, 6(1), e16406; Hutcheson DM et al., *Behav Pharmacol* 2011, 22(2), 173-181], y redujeron la expresión o desarrollo de la sensitización a amfetamina y cocaína [Borgland SL et al., *Neuron* 2006, 49(4), 589-601; Quarta D et al., "The orexin-1 receptor antagonist SB-334867 reduces amphetamine-evoked dopamine outflow in the shell of the nucleus accumbens and decreases the expression of amphetamine sensitization". *Neurochem Int* 2010, 56(1), 11-15].

El efecto de un fármaco para disminuir las adicciones puede ser modelada en mamíferos normales o particularmente sensibles usados como modelos animales [véase, por ejemplo, Spealman et al, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1999, 64, 327-336; o T.S. Shippenberg, G.F. Koob, "Recent advances in animal models of drug addiction" en *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress*; K.L.Davis, D. Charney, J.T.Doyle, C. Nemeroff (eds.) 2002; capítulo 97, páginas 1381-1397].

Varias líneas convergentes de evidencia además demuestran un rol directo del sistema de orexina como modulador de la respuesta a stress agudo. Por ejemplo, el estrés (es decir, estrés psicológico o estrés físico) es asociado con excitación y vigilancia aumentada lo que a su vez es controlado por las orexinas [Sutcliffe, JG et al., *Nat Rev Neurosci* 2002, 3(5), 339-349]. Las neuronas Orexina están probablemente involucradas en la coordinación de la regulación del comportamiento y las respuestas fisiológicas en ambientes estresantes [Y. Kayaba et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2003, 285:R581-593]. Hipocretina/orexina contribuye a la expresión de algunas pero no de todas las formas de estrés y excitación [Furlong T M et al., *Eur J Neurosci* 2009, 30(8), 1603-1614]. La respuesta al estrés puede llevar a cambios de comportamiento y psicológicos dramáticos, usualmente limitados en el tiempo que pueden afectar el apetito, metabolismo y comportamiento de alimentación [Chrousos, GP et al., *JAMA* 1992, 267(9), 1244-1252]. La respuesta de estrés aguda puede incluir cambios de comportamiento, autonómicos y endocrinológicos, tal como promover vigilancia elevada, disminución de libido, aumento del ritmo cardiaco y presión sanguínea, o una redirección del flujo sanguíneo para activar los músculos, el corazón y el cerebro [Majzoub, JA et al., *European Journal of Endocrinology* 2006, 155 (suppl_1) S71-S76].

Como se describió anteriormente el sistema de orexina regula las funciones homeostáticas tal como el ciclo sueño-vigilia, balance de energía, emociones y recompensa. Las orexinas también están involucradas en mediar la respuesta de comportamiento y del sistema nervioso autónomo aguda al estrés [Zhang Wet al., "Multiple components of the defense response depend on orexin: evidence from orexin knockout mice and orexin neuron-ablated mice." *Auton Neurosci* 2006, 126-127, 139-145]. Los trastornos del ánimo incluyen todos los tipos de depresión y trastornos bipolar que son caracterizados por "ánimo" y sentimientos alterados, así como también por problemas de sueño (insomnio así como también hipersomnio), cambios en el apetito o peso y placer reducido y pérdida del interés en las actividades diarias o que eran disfrutadas previamente [Liu X et al., *Sleep* 2007, 30(1): 83-90]. Por lo tanto, hay una fuerte racional que señala que las alteraciones en el sistema de orexina pueden contribuir a los síntomas de trastornos del ánimo. La evidencia en humanos, por ejemplo, indica que los pacientes deprimidos muestran variaciones débiles en los niveles de orexina en CSF [Salomon RM et al., *Biol Psychiatry* 2003, 54(2), 96-104]. En modelos de depresión en roedores, se demostró que las orexinas también estaban involucradas. La inducción farmacológica de un estado de comportamiento depresivo en ratas, por ejemplo, reveló una asociación con los niveles de orexina hipotalámico elevados [Feng P et al., *J Psychopharmacol* 2008, 22(7): 784-791]. Un modelo de estrés crónico de depresión en ratas también demostró una asociación de las alteraciones del sistema de orexina molecular con estados de comportamiento depresivo y una reversión de estos cambios moleculares con tratamientos antidepressivos [Nollet et al., *NeuroPharm* 2011, 61(1-2):336-46].

El sistema de orexina también está involucrado en comportamientos de apetito/ búsqueda de recompensa relacionado con estrés (Berridge CW et al., *Brain Res* 2009, 1314, 91-102). En ciertos casos, un efecto modulador sobre el estrés puede ser complementario a un efecto sobre el comportamiento del apetito/búsqueda de recompensa como tal. Por ejemplo, un antagonista del receptor de orexina selectiva OX₁ fue capaz de prevenir la reincorporación del comportamiento de búsqueda de cocaína inducida por el estrés de la descarga eléctrica plantar [Boutrel, B et al., *Proc Natl Acad Sci* 2005, 102(52), 19168-19173]. Adicionalmente, también se sabe que el estrés desempeña un rol integral en la abstinencia lo que ocurre durante el cese del consumo de drogas (Koob, GF et al., *Curr Opin Investig Drugs* 2010, 11(1), 63-71).

Se ha descubierto que las orexinas aumentan el consumo de alimento y el apetito [Tsujino, N, Sakurai, T, *Pharmacol Rev* 2009, 61(2) 162-176]. Como un factor ambiental adicional, el estrés puede contribuir al trastorno por atracón, y conducir a obesidad [Adam, TC et al. *Physiol Behav* 2007, 91(4) 449-458]. Los modelos animales que son modelos

relevantes clínicamente de trastorno por atracón en humanos son descritos por ejemplo en W. Foulds Mathes et al.; *Appetite* 2009, 52, 545-553.

Varios estudios recientes reportaron que las orexinas pueden jugar un rol en varias otras funciones importantes relacionadas con la excitación, especialmente cuando un organismo debe responder a estresores y retos inesperados en el ambiente [Tsujino N y Sakurai T. *Pharmacol Rev.* 2009, 61:162-176; Carter ME, Borg JS and deLecea L., *Curr Op Pharmacol.* 2009, 9: 39-45; C Boss, C Brisbare-Roch, F Jenck, *Journal of Medicinal Chemistry* 2009, 52: 891-903]. El sistema de orexinas interactúa con la red neural que regula la emoción, recompensas y homeostasis de energía para mantener los estados de vigilancia apropiados. Las disfunciones en esta función pueden, de esta manera, estar relacionadas con varios trastornos de la salud mental en los que la vigilancia, excitación, vigilia o atención se encuentran alteradas.

El compuesto (2R)-2-((1S)-6,7-dimetoxi-1-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etil]-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-N-metil-2-fenil-acetamida (documento WO2005/118548), un antagonista del receptor de orexina dual, mostró eficacia clínica en humanos cuando fue probada para la indicación primaria de insomnio. En las ratas, el compuesto ha mostrado reducir el estado de alerta, caracterizado por disminuir en vigilia activa y locomoción; y aumentar de forma dosis dependiente el tiempo pasado tanto en sueño REM como NREM [Brisbare et al., *Nature Medicine* 2007, 13, 150-155]. El compuesto además atenuó las respuestas cardiovasculares a miedo condicionado y exposición nueva en ratas [Furlong T M et al., *Eur J Neurosci* 2009, 30(8), 1603-1614]. También es activo en un modelo animal de miedo condicionado: el paradigma del sobresalto potenciado por el miedo de la rata (documento WO2009/047723), que se refiere a estados emocionales de enfermedades de miedo y ansiosas, tal como, ansiedades incluyendo fobias y trastornos de estrés post-traumático (PTSD). Adicionalmente, el aprendizaje y la memoria declarativa y no declarativa y la memoria intacta han sido demostrados en ratas tratadas con este compuesto [documento WO2007/105177, H Dietrich, F Jenck, *Psychopharmacology* 2010, 212, 145-154]. Dicho compuesto además disminuyó los niveles cerebrales de beta-amiloidea ($A\beta$) así como también los depósitos de placa $A\beta$ después de la restricción aguda de sueño en proteínas de precursor amiloideo en ratas transgénicas [JE Kang et al., "Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle.", *Science* 2009, 326(5955): 1005-1007]. Se cree que la acumulación del $A\beta$ en el espacio extracelular cerebral es un evento crítico en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. La llamada y generalmente conocida "hipótesis de la cascada amiloidea" asocia $A\beta$ a la enfermedad de Alzheimer y, de esta forma, a la disfunción cognitiva, expresada como impedimento del aprendizaje y memoria. El compuesto también ha mostrado inducir actividad similar a anti-depresivos en un modelo de depresión en ratas, cuando es administrado crónicamente [Nollet et al., *NeuroPharm* 2011, 61(1-2):336-46]. Además, se ha demostrado que el compuesto atenúa la activación natural inducida por orexina A en ratas en ayuno hambrientas expuestas a olores de alimento [MJ Prud'homme et al., *Neuroscience* 2009, 162(4), 1287-1298]. El compuesto también mostró actividad farmacológica en un modelo de rata de auto-administración de nicotina [LeSage MG et al., *Psychopharmacology* 2010, 209(2), 203-212]. Otro antagonista del receptor de orexina dual, N-bifenil-2-il-1-[[1-(1-metil-1H-benzimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-L-prolinamida inhibió la reincorporación de nicotina por un refuerzo condicionado y redujo los cambios en el comportamiento (sensibilización locomotora) y moleculares (respuesta transcripcional) inducidos por la administración repetida de anfetamina en roedores [Winrow et al., *Neuropharmacology* 2009, 58(1),185-94].

Los antagonistas del receptor de orexina que comprenden un derivado de amida cíclica saturada 2-sustituida (tal como pirrolidin-1-carboxamida 2-sustituidas) se conocen, por ejemplo, en los documentos WO2008/020405, WO2008/038251, WO2008/081399, WO2008/087611, WO2008/117241, WO2008/139416, WO2009/004584, WO2009/016560, WO2009/016564, WO2009/040730, WO2009/104155, WO2010/004507, WO2010/038200, WO2001/096302, WO2002/044172, WO2002/089800, WO2002/090355, WO2003/002559, WO2003/032991, WO2003/041711, WO2003/051368, WO2003/051873, WO2004/026866, WO2004/041791, WO2004/041807, WO2004/041816, WO2009/003993, WO2009/003997, WO2009/124956, WO2010/060470, WO2010/060471, WO2010/060472, WO2010/063662, WO2010/063663, WO2010/072722, WO2010/122151, y WO2008/150364. Se desvela un compuesto derivado de pirrolidina particular en Langmead et. al, *Brit. J. Pharmacol.* 2004, 141, 340-346 como altamente selectivo de orexina-1. El documento WO2003/002561 desvela ciertos derivados de amina cíclicas N-aróilos, incluyendo derivados de pirrolidina sustituida con benzimidazol-2-il-metilo, como antagonistas del receptor de orexina. A pesar del gran número de compuestos de la técnica anterior y su elevada variabilidad estructural, todos los compuestos comparten una característica estructural común, es decir, en la posición 2 de la amida cíclica saturada, un grupo enlazador, tal como al menos un grupo metileno (o grupos más largos tales como $-CH_2-NH-CO-$, $-CH_2-NH-$, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, etc.) une la amida cíclica al respectivo sustituyente del sistema anular aromático. A pesar de los cambios conformacionales sustanciales que pueden esperarse de la eliminación de un enlazador entre dos elementos estructurales rígidos, el compuesto de las presentes formas cristalinas, que tienen un anillo de benzimidazol unido directamente a una pirrolidin amida en la posición 2, es un antagonista dual del receptor de orexina 1 y del receptor de orexina 2 y, por lo tanto, es de uso potencial en el tratamiento de trastornos relacionados con disfunciones orexinérgicas, comprendiendo especialmente trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, o trastornos del apetito; y especialmente en el tratamiento de trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, y trastornos de adicción.

Se ha descubierto recientemente que ciertas formas cristalinas del COMPUESTO pueden ser encontradas bajo ciertas condiciones. Dichas formas cristalinas del COMPUESTO son novedosas y pueden tener propiedades ventajosas en vista del uso potencial del COMPUESTO como principio farmacéutico activo. Tales ventajas pueden

incluir mejores propiedades de flujo; menos higroscopicidad; mejor reproducibilidad en la preparación (por ejemplo, mejores parámetros de filtración, mejor reproducibilidad de la formación, y/o mejor sedimentación); y/o morfología definida. Dichas formas cristalinas del COMPUESTO pueden ser particularmente adecuadas en un proceso de preparación de ciertas composiciones farmacéuticas, especialmente composiciones farmacéuticas a base de lípidos.

5 Descripción de las figuras

La figura 1 muestra el diagrama de difracción de polvo de rayos X del COMPUESTO en forma amorfa como se obtuvo del Ejemplo de referencia 1. El diagrama de difracción de rayos X muestra material amorfo.

La figura 2 muestra el diagrama de difracción de polvo de rayos X del COMPUESTO en una forma cristalina 1 como se obtuvo en el Ejemplo 1. El diagrama de difracción de rayos X muestra picos teniendo una intensidad relativa, comparado con el pico más intenso en el diagrama, de los siguientes porcentajes (intensidades de picos relativas dadas en paréntesis) a los ángulos de refracción indicados 2θ (se reportaron picos seleccionados del intervalo de $3-40^\circ 2\theta$ con una intensidad relativa mayor del 10 %): $8,6^\circ$ (84 %), $11,5^\circ$ (45 %), $13,4^\circ$ (44 %), $14,6^\circ$ (43 %), $15,2^\circ$ (100 %), $15,5^\circ$ (72 %), $17,1^\circ$ (36 %), $18,4^\circ$ (22 %), $19,3^\circ$ (42 %), $19,8^\circ$ (27 %), $21,3^\circ$ (62 %), $21,9^\circ$ (14 %), $22,4^\circ$ (36 %), $23,1^\circ$ (13 %), $23,5^\circ$ (25 %), $25,7^\circ$ (27 %), $26,4^\circ$ (36 %), $26,8^\circ$ (22 %), $27,9^\circ$ (22 %), y $29,7^\circ$ (17 %)

La figura 3 muestra el diagrama de difracción de polvo de rayos X del COMPUESTO en una forma cristalina 2 como se obtuvo en el Ejemplo 2. El diagrama de difracción de rayos X medido con el método 2 muestra picos teniendo una intensidad relativa, comparado con el pico más intenso en el diagrama, de los siguientes porcentajes (intensidades de picos relativas dadas en paréntesis) a los ángulos de refracción indicados 2θ (se reportaron picos seleccionados del intervalo de $3-40^\circ 2\theta$ con una intensidad relativa mayor del 10 %): $7,2^\circ$ (38 %), $10,9^\circ$ (69 %), $13,4^\circ$ (83 %), $14,3^\circ$ (70 %), $14,5^\circ$ (70 %), $14,9^\circ$ (71 %), $16,1^\circ$ (14 %), $17,2^\circ$ (47 %), $18,3^\circ$ (82 %), $19,8^\circ$ (14 %), $20,0^\circ$ (11 %), $20,6^\circ$ (15 %), $20,9^\circ$ (85 %), $21,1^\circ$ (100 %), $21,8^\circ$ (44 %), $22,3^\circ$ (14 %), $22,9^\circ$ (27 %), $24,0^\circ$ (71 %), $27,7^\circ$ (13 %), $25,0^\circ$ (17 %), $25,2^\circ$ (30 %), $27,0^\circ$ (16 %), $27,3^\circ$ (32 %), $28,9^\circ$ (13 %), $30,1^\circ$ (45 %), $30,4^\circ$ (13 %), $32,7^\circ$ (11 %), y $36,0^\circ$ (16 %)

Para evitar cualquier duda, los picos enumerados anteriormente describen los resultados experimentales de la difracción de polvo de rayos X mostrada en la figura 2, respectivamente la figura 3. Se entiende que, en contraste con los picos enumerados anteriormente, solamente se requiere una selección de picos característicos para caracterizar completamente y sin ambigüedades el COMPUESTO en la respectiva forma cristalina de la presente invención.

En los diagramas de difracción de rayos X de la figura 1 a la figura 3, el ángulo de refracción 2θ (2θ) se representa en el eje horizontal y los recuentos en el eje vertical.

La figura 4 muestra el diagrama de sorción de vapor gravimétrico del COMPUESTO en la forma de la base libre amorfa como se obtuvo del Ejemplo de referencia 1.

La figura 5 muestra el diagrama de sorción de vapor gravimétrico del COMPUESTO en una forma cristalina 1 como se obtuvo en el Ejemplo 1.

La figura 6 muestra el diagrama de sorción de vapor gravimétrico del COMPUESTO en una forma cristalina 2 como se obtuvo en el Ejemplo 2.

En los diagramas de sorción de vapor gravimétrico de la figura 4 a la figura 6, la humedad relativa (% de HR) se representa en el eje horizontal y el cambio de masa (% de dm) en el eje vertical.

40 Descripción detallada de la invención

1) Una primera realización de la invención se refiere a formas cristalinas del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona; caracterizadas por:

a. la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$; o

b. la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : $13,4^\circ$, $18,3^\circ$, y $24,0^\circ$.

Se entiende que las formas cristalinas de acuerdo a la realización 1) comprenden COMPUESTO en una forma cristalina de la base libre (es decir, no en la forma de una sal). Además, dichas formas cristalinas pueden comprender disolventes no-coordinados y/o coordinados. El disolvente coordinado se usa en el presente documento como término para un solvato cristalino. De la misma forma, el disolvente no coordinado se usa en el presente documento como un término para disolventes fisiosorbidos o físicamente atrapados (definiciones de acuerdo con Polymorphism in the Pharmaceutical Industry (Ed. R. Hilfiker, VCH, 2006), Capítulo 8: U.J. Griesser: The Importance of Solvates). La forma cristalina 1 en particular es un hemihidrato, es decir, comprende aproximadamente 0,5 equivalentes de agua coordinada, y puede comprender disolvente no

coordinado adicional tal como isopropanol, etanol y/o agua, especialmente agua. La forma cristalina 2 en particular no comprende agua coordinada, pero puede comprender un disolvente no coordinado tal como isopropanol, etanol y/o agua.

5 2) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto de acuerdo a la realización 1), caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$.

10 3) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con la realización 2), caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de la difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $11,5^\circ$, $13,4^\circ$, $14,6^\circ$, $15,2^\circ$, $15,5^\circ$, $19,3^\circ$, $21,3^\circ$, $22,4^\circ$, y $26,4^\circ$.

15 4) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con la realización 2) o 3), que esencialmente muestra el patrón de difracción de polvo de rayos X como se representa en la figura 2.

20 5) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 4), que tiene un evento endotérmico amplio en el intervalo de aproximadamente 50 a 160 °C como se determinó por medio de calorimetría diferencial de barrido usando el método como se describe en el presente documento.

25 6) En otra realización, la presente invención se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 5), en la que dicha forma se puede obtener:

- 30 a) mezclando 2 g del COMPUESTO como material amorfo con 8 ml de una mezcla de etanol/agua con una relación volumen/volumen de 1/4;
 b) añadiendo aproximadamente 0,05 g de cristales de siembra del COMPUESTO en forma cristalina 1 (que se puede obtener, por ejemplo, usando el procedimiento del ejemplo 1 a continuación);
 c) agitando a 300 rpm durante aproximadamente 16 horas a temperatura ambiente;
 d) filtrar y lavar la torta con 2 ml de etanol/agua 1/4 (v/v) y secando el producto a temperatura ambiente y una presión reducida de aproximadamente 10 mbar durante 4 horas; y
 e) por equilibrio abierto a temperatura ambiente y una humedad relativa de aproximadamente el 60 % durante 2 horas.

35 7) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $8,6^\circ$, $15,2^\circ$, y $21,3^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 6), en la que dicha forma cristalina es un hemihidrato (es decir, contiene aproximadamente 0,5 equivalentes de agua coordinada por equivalente del COMPUESTO; en la que se entiende que dichos aproximadamente 0,5 equivalentes de agua coordinada corresponden a una forma cristalina que tiene un contenido de agua de aproximadamente el 1,96 %).

40

8) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto de acuerdo a la realización 1), caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $13,4^\circ$, $18,3^\circ$, y $24,0^\circ$.

45 9) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $13,4^\circ$, $18,3^\circ$, y $24,0^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con la realización 8), caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de la difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $10,9^\circ$, $13,4^\circ$, $14,3^\circ$, $14,9^\circ$, $18,3^\circ$, $20,9^\circ$, $21,1^\circ$, $21,8^\circ$, $24,0^\circ$, y $30,1^\circ$.

50 10) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $13,4^\circ$, $18,3^\circ$, y $24,0^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con la realización 8) o 9), que esencialmente muestra el patrón de difracción de polvo de rayos X como se representa en la figura 3.

55 11) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : $13,4^\circ$, $18,3^\circ$, y $24,0^\circ$ de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 8) a 10), que tiene un punto de fusión de aproximadamente 152 °C como se determinó por medio de calorimetría diferencial de

barrido usando el método como se describe en el presente documento.

12) En otra realización, la presente invención se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : 13,4°, 18,3°, y 24,0° de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 8) a 11), en la que dicha forma se puede obtener:

- a) mezclando 10 mg del COMPUESTO en forma cristalina 1 en 0,05 ml de acetonitrilo;
- b) agitando en un vial cerrado de 4 ml durante hasta tres días;
- c) aislando; y secando a presión reducida (2 mbar) y temperatura ambiente durante 2 horas.

13) Otra realización se refiere a una forma cristalina del compuesto caracterizada por la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X en los siguientes ángulos de refracción 2θ : 13,4°, 18,3°, y 24,0° de acuerdo con la realización 1); o a tal forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 8) a 12), en la que dicha forma cristalina es un anhidrato (es decir, no contiene agua coordinada).

Para evitar cualquier duda, cuando una de las realizaciones se refiere a "picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ ", dicho diagrama de difracción de polvo de rayos X se obtiene al usar radiación Cu $K\alpha_1$ y $K\alpha_2$ combinada, sin separación de $K\alpha_2$; y se debe entender que la exactitud de los valores 2θ como se proporcionaron en el presente documento están en el intervalo de $\pm 0,1-0,2^\circ$. Especialmente, cuando se especifica un ángulo de refracción 2θ para un pico en las realizaciones de la invención y las reivindicaciones, el valor 2θ dado se debe entender como un intervalo de dicho valor menos $0,2^\circ$ a dicho valor más $0,2^\circ$ ($2\theta \pm 0,2^\circ$); y preferentemente desde dicho valor menos $0,1^\circ$ a dicho valor más $0,1^\circ$ ($2\theta \pm 0,1^\circ$).

Cuando se usa la forma plural para los compuestos, composiciones farmacéuticas sólidas, enfermedades y similares, esto pretende significar también un compuesto, sólido o similares único.

La expresión "enriquecido enantioméricamente" se entiende en el contexto de la presente invención que significa que especialmente al menos el 90, preferentemente al menos el 95, y mucho más preferentemente al menos el 99 por ciento en peso del COMPUESTO están presentes en la forma de un enantiómero del COMPUESTO. Se entiende que el COMPUESTO está presente en la configuración (S) absoluta enriquecida enantioméricamente.

La expresión "esencialmente puro" se entiende en el contexto de la presente invención que significa especialmente que al menos el 90, preferentemente al menos el 95, y mucho más preferentemente al menos el 99 por ciento en peso de los cristales de un COMPUESTO está presente en una forma cristalina de acuerdo con la presente invención, especialmente en una única forma cristalina de la presente invención.

Cuando se define la presencia de un pico en, por ejemplo, un diagrama de difracción de polvo de rayos X, un enfoque común es hacerlo en términos de la relación S/N (S = señal, N = ruido). De acuerdo con esta definición, cuando se indica que un pico ha estado presente en un diagrama de difracción de polvo de rayos X, se entiende que el pico en el diagrama de difracción de polvo de rayos X es definido al tener una relación S/N (S = señal, N = ruido) de más de x (siendo x un valor numérico mayor de 1), usualmente mayor de 2, especialmente mayor de 3.

En el contexto de indicar que la forma cristalina esencialmente muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X como se representa en la figura 2 o figura 3, respectivamente, el término "esencialmente" significa que al menos los picos principales del diagrama mostrado en dichas figuras, es decir, aquellos que tienen una intensidad relativa de más del 10 %, especialmente más de un 20 %, en comparación con el pico más intenso en el diagrama, tienen que estar presentes. Sin embargo, el experto en la técnica de la difracción de polvo de rayos X reconocerá que las intensidades relativas en los diagramas de difracción de polvo de rayos X pueden estar sujetas a fuertes variaciones de intensidad debido a los efectos de orientación preferidos.

A menos que se use con respecto a las temperaturas, el término "aproximadamente" ubicado antes de un valor numérico "X" se refiere en la presente solicitud a un intervalo que se extiende desde X menos el 10 % de X a X más el 10 % de X, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde X menos el 5 % de X a X más el 5 % de X. En el caso particular de las temperaturas, el término "aproximadamente" ubicado antes de una temperatura "Y" se refiere en la presente solicitud a un intervalo que se extiende desde una temperatura Y menos 10° a Y más 10° °C, preferentemente a un intervalo que se extiende desde Y menos 5° °C a Y más 5° °C, particularmente a un intervalo que se extiende desde Y menos 3° °C a Y más 3° °C. La temperatura ambiente se refiere a una temperatura de aproximadamente 25° °C. Cuando en la presente solicitud se usa el término n equivalente(s), en el que n es un número, significa, y dentro del alcance de la presente solicitud, que n se refiere a aproximadamente número n, preferentemente n se refiere al número exacto del número n.

Cuando la palabra "entre" o "a" es usada para describir un intervalo numérico, se debe entender que los extremos del intervalo indicado están explícitamente incluidos en el intervalo. Por ejemplo: si un intervalo de temperatura es descrito como entre 40° °C y 80° °C (o 40° °C a 80° °C), esto significa que los extremos 40° °C y 80° °C están incluidos en el intervalo; o si una variable es definida como un número entero entre 1 y 4 (o 1 a 4), esto significa que la variable es el número entero 1, 2, 3, o 4.

La expresión % p/p se refiere a un porcentaje en peso comparado al peso total de la composición considerada. De la misma manera, la expresión v/v se refiere a una relación en volumen de los dos componentes considerados. La expresión "vol" significa volúmenes (en l, por ejemplo, de disolvente) por peso (en kg, por ejemplo de reactante). Por ejemplo, 7 vol significa 7 litros (de disolvente) por kg (de reactante).

- 5 Las formas cristalinas, especialmente las formas cristalinas esencialmente puras, del COMPUESTO de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) pueden usarse como medicamentos, por ejemplo, en la forma de composiciones farmacéuticas para administración enteral o parenteral.

10 12) Por lo tanto, otra realización se refiere a una forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) para su uso como un medicamento.

El sólido cristalino, especialmente el sólido cristalino esencialmente puro, del COMPUESTO de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) puede usarse como un componente único o como mezclas con otras formas cristalinas o la forma amorfa del COMPUESTO.

15 La producción de las composiciones farmacéuticas puede realizarse de una manera que será familiar para cualquier experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21^a Edición (2005), Parte 5, "Pharmaceutical Manufacturing" [publicado por Lippincott Williams & Wilkins]) poniendo las formas cristalinas de la presente invención, opcionalmente en combinación con otras sustancias valiosas terapéuticamente, en una forma de administración galénica junto con materiales de vehículo sólidos o líquidos adecuados, no tóxicos, inertes farmacéuticamente aceptables y, si se desea, adyuvantes farmacéuticamente usuales.

14) Una realización adicional de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas comprendiendo como principio activo una forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13), y al menos un material de vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Dichas composiciones farmacéuticas de acuerdo con la realización 14) son especialmente útiles para la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno, tal como especialmente trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, o trastornos del apetito.

30 15) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 14), en la que dicha composición farmacéutica está en la forma de un comprimido.

16) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 14), en la que dicha composición farmacéutica está en la forma de una cápsula.

35 17) Una realización adicional de la invención se refiere a una forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) [especialmente la forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 7)], para su uso en la fabricación de una composición farmacéutica, en la que dicha composición farmacéutica comprende como principio activo el compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona, y al menos un material de vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 Para evitar cualquier duda, la realización 17) se refiere a la forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) [especialmente la forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 7)] que es adecuada/que se usa como la etapa de aislamiento final del COMPUESTO (por ejemplo para cumplir los requisitos de pureza de la producción farmacéutica), mientras la composición farmacéutica final de acuerdo con la realización 17) puede o no contener dicha forma cristalina (por ejemplo, porque la forma cristalina original del COMPUESTO es adicionalmente transformada durante el proceso de fabricación y/o se disuelve en el material o materiales de vehículo farmacéuticamente aceptables; por lo tanto, en la composición farmacéutica final, el COMPUESTO puede estar presente en forma no cristalina, en otra forma cristalina, o en forma disuelta, o similares).

50 18) Por lo tanto, una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende como principio activo el compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona, en la que dicha composición farmacéutica se fabrica usando un forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13) [especialmente la forma cristalina de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 2) a 7)] y al menos un material de vehículo farmacéuticamente aceptable.

55 19) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 18), en la que dicha composición farmacéutica está en la forma de una cápsula.

20) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la

realizaciones 18) o 19), en la que dicha composición farmacéutica es una formulación a base de lípidos (para referencia, véase, por ejemplo, C.W. Pouton, C.J.H. Porter, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 625-637, cuya divulgación se incorpora completamente).

5 21) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 18), en la que tal composición farmacéutica es una dispersión amorfa sólida.

22) Una realización adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 21), en la que dicha composición farmacéutica está en forma de un comprimido, o en forma de una cápsula.

10 Dichas composiciones farmacéuticas de acuerdo con las realizaciones 18) a 22) son especialmente útiles para la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno, tal como trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, o trastornos del apetito; especialmente para la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos anteriores donde se requiere un inicio de la acción corto (en particular trastornos del sueño o trastornos de ansiedad).

15 23) Una realización adicional de la invención se refiere a una forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13), para su uso en la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno, en particular enfermedades o trastornos de salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas.

20 24) Una realización adicional de la invención se refiere a una forma cristalina del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13), para su uso en la preparación de un medicamento para la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno, en particular enfermedades o trastornos de salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas.

25 25) Una realización adicional de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 14) a 16), o 18) a 22), para la prevención o tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno, en particular enfermedades o trastornos de salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas.

30 26) Una realización adicional de la invención se refiere a cualquiera de las realizaciones 23) a 25), en las que dicha enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno son enfermedades o trastornos de la salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas seleccionados del grupo que consiste en trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, y trastornos del apetito (especialmente trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, y trastornos de adicción).

35 25) Una realización adicional de la invención se refiere a cualquiera de las realizaciones 22) a 25), en las que dichas enfermedades o trastornos relacionados con el sistema orexígeno son enfermedades o trastornos de la salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas seleccionados del grupo que consiste en trastornos del sueño seleccionados del grupo que consiste en disomnias, parasomnias, trastornos del sueño asociados con una afección médica general y trastornos del sueño inducido por sustancias; trastornos de ansiedad; y trastornos de adicción.

40 Dichos trastornos relacionados con disfunciones orexinérgicas son enfermedades o trastornos donde se requiere un antagonista del receptor de orexina humano, en particular trastornos de la salud mental relacionados con disfunciones orexinérgicas. Los trastornos mencionados anteriormente pueden definirse, en particular, como comprendiendo trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del ánimo, o trastornos del apetito. En una sub-realización, los trastornos mencionados anteriormente comprenden especialmente trastornos de ansiedad, trastornos de adicción y trastornos del ánimo, especialmente trastornos de ansiedad y trastornos de adicción. En otra sub-realización, los trastornos mencionados anteriormente comprenden especialmente trastornos del sueño.

45 Adicionalmente, trastornos adicionales relacionados con disfunciones orexinérgicas se seleccionan del tratamiento, control, mejora o reducción del riesgo de epilepsia, incluyendo la ausencia de epilepsia; tratar o controlar el dolor, incluyendo el dolor neuropático; tratar o controlar la enfermedad de Parkinson; tratar o controlar la psicosis, incluyendo manía aguda y trastorno bipolar; tratar o controlar el infarto cerebral, particularmente el infarto isquémico o hemorrágico; bloquear una respuesta emética es decir, náuseas y vómitos; y tratar o controlar la agitación, en aislamiento o como comorbilidad con otra afección médica.

55 Los trastornos de ansiedad se pueden distinguir por el objeto primario o especificidad de la amenaza, que varía desde difusa como en un trastorno de ansiedad generalizado, a circunscrito como se encuentra en las ansiedades fóbicas (PHOB) o trastornos de estrés post-traumático (PTSD). Por lo tanto, los trastornos de ansiedad pueden definirse, de esta manera, como comprendiendo trastornos de ansiedad generalizada (GAD), trastornos obsesivos compulsivos (TOC), trastornos de estrés agudo, trastornos de estrés post-traumático (PTSD), trastornos de ansiedad

y pánico (PAD) incluyendo ataques de pánico, ansiedades fóbicas (PHOB), fobias específicas, fobia social (trastorno de ansiedad social), escape, trastornos somatoformes incluyendo hipocondriasis, trastornos de ansiedad por separación, trastornos de ansiedad debido a una afección médica general, y trastornos de ansiedad inducido por una sustancia. En una sub-realización, los ejemplos particulares de trastornos de ansiedad inducidos por amenazas circunscritas son ansiedades fóbicas o trastornos de estrés post-traumático. Los trastornos de ansiedad especialmente incluyen trastorno de estrés post-traumático, trastornos obsesivos compulsivos, ataques de pánico, ansiedades fóbicas y escape.

Los trastornos de adicción pueden definirse como adicciones a uno o más estímulos de recompensa, especialmente a un estímulo de recompensa. Dichos estímulos de recompensa pueden ser de origen natural o sintético. Los ejemplos de tales estímulos de recompensa son sustancias/fármacos {ya sea de origen natural o sintético; tal como cocaína, anfetaminas, opiáceos [de origen natural o (semi-)sintético tal como morfina o heroína], cannabis, etanol, mescalina, nicotina, y similares}, cuyas sustancias/fármacos pueden ser consumidas en solitario o en combinación; u otros estímulos de recompensa {ya sea de origen natural (tal como alimentos, dulces, grasas, o sexo, y similares), o de origen sintético [tal como apuestas, o Internet/IT (tal como apuestas no moderadas, o participación inadecuada en los sitios de redes sociales o blogs), y similares]}. En una sub-realización, los trastornos de adicción relacionados con el uso, abuso, búsqueda y restablecimiento de sustancias psicoactivas, se definen como todos los tipos de adicciones psicológicas o físicas y sus componentes de tolerancia y dependencia relacionados. Los trastornos de adicción relacionados con sustancias incluyen especialmente trastornos de uso de sustancias tal como dependencia de sustancia, deseo de sustancias y abuso de sustancias; los trastornos inducidos por sustancias tal como intoxicación por sustancias, abstinencia de sustancias, y delirio inducido por sustancias. La expresión "prevención o tratamiento de adicciones" (es decir, tratamiento preventivo o curativo de pacientes que han sido diagnosticados con una adicción, o en riesgo de desarrollar adicciones), se refiere a disminuir adicciones, disminuir notablemente el inicio de adicciones, al disminuir su mantenimiento, al facilitar la retirada, al facilitar la abstinencia, o al atenuar, disminuir o prevenir la aparición del restablecimiento de la adicción (especialmente para disminuir el inicio de adicciones, para facilitar la abstinencia, o atenuar, disminuir o prevenir la aparición del restablecimiento de adicción).

Los trastornos del ánimo incluyen episodio depresivo mayor, episodio maniaco, episodio mixto y episodio hipomaniaco; trastornos depresivos incluyendo trastorno depresivo mayor, trastorno distímico; trastorno bipolar incluyendo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II (episodios depresivo mayor recurrente con episodios hipomaniacos), trastornos ciclotímicos; trastornos del ánimo incluyendo trastorno del ánimo debido a una afección médica general (incluyendo los sub-tipos con características depresivas, con episodios como un episodio depresivo mayor, con características maníacas, y con características mixtas), trastornos del ánimo inducido por sustancias (incluyendo los sub-tipos con características depresivas, con características maníacas y con características mixtas). Dichos trastornos del ánimo son especialmente episodio depresivo mayor, trastorno depresivo mayor, trastorno del ánimo debido a una afección médica general; y trastorno del ánimo inducido por sustancias.

Los trastornos del apetito comprenden trastornos de la alimentación y trastornos de la bebida. Los trastornos de la alimentación pueden ser definidos como comprendiendo trastornos de la alimentación asociados con consumo excesivo de alimentos y complicaciones asociados con este; anorexias; trastornos de alimentación compulsiva; obesidad (debido a cualquier causa, ya sea genética o ambiental); trastornos relacionados a la obesidad incluyendo sobrealimentación y obesidad observada en pacientes con diabetes tipo 2 (no insulino-dependiente); bulimias incluyendo bulimia nervosa; caquexia; y trastorno por atracón. Trastornos de la alimentación particulares comprenden disfunción metabólica; control del apetito desregulado; obesidades compulsivas; bulimia o anorexia nervosa. En una sub-realización, los trastornos de la alimentación pueden ser definidos como especialmente comprendiendo anorexia nervosa, bulimia, caquexia, trastorno por atracón, u obesidades compulsivas. Los trastornos de la bebida incluyen polidipsia en trastornos psiquiátricos y todos los otros tipos de consumo excesivo de líquidos. El consumo de alimento modificado patológicamente puede resultar a partir de apetito alterado (atracción o aversión por la comida); balance de energía alterado (consumo frente gasto); percepción alterada de la calidad de la comida (alta en grasa o carbohidratos, palatabilidad elevada); disponibilidad de alimentos alterada (dietas no restringidas o deprivación) o balance de agua alterado.

Las disfunciones cognitivas incluyen déficits de atención, aprendizaje y especialmente las funciones de memoria que ocurren de forma transitoria o crónica en trastornos psiquiátricos, neurológicos, neurodegenerativos, cardiovascular e inmune, y también que ocurren de forma transitoria o crónica en la población normal, saludable, joven, adulta, o especialmente la población envejeciendo. Las disfunciones cognitivas se refieren especialmente a la mejora o mantenimiento de la memoria en pacientes que han sido diagnosticados como teniendo, o en riesgo de desarrollar, enfermedades o trastornos en los que la memoria disminuida (especialmente declarativa o procedimental) es un síntoma [en particular demencias tales como demencia frontotemporal, o demencia con cuerpos de Lewy, o (especialmente) enfermedad de Alzheimer]. Especialmente, la expresión "prevención o tratamiento de disfunciones cognitivas" se refiere a la mejora o mantenimiento de la memoria en pacientes que tienen una manifestación clínica de una disfunción cognitiva, especialmente expresada como un déficit de la memoria declarativa, asociada con demencias tal como demencia frontotemporal, o demencia con cuerpos de Lewy, o (especialmente) enfermedad de Alzheimer. Adicionalmente, la expresión "prevención o tratamiento de disfunciones cognitivas" también se refiere a la mejora de la consolidación de la memoria en cualquiera de las poblaciones de pacientes mencionados.

Los trastornos del sueño comprenden disomnias, parasomnias, trastornos del sueño asociados con una afección

médica general y trastornos del sueño inducido por sustancias. En particular, las disomnias incluyen trastornos del sueño intrínsecos (especialmente insomnio, trastornos del sueño relacionados con la respiración, trastorno de movimiento de extremidades periódicos, y síndrome de las piernas inquietas), trastornos del sueño extrínsecos, y trastornos del sueño del ritmo circadiano. Las disomnias notables incluyen insomnio, insomnio primario, insomnio idiopático, insomnias asociadas con depresión, trastorno emocional/del ánimo, envejecimiento, enfermedad de Alzheimer o deterioro cognitivo; interrupciones del sueño REM; trastornos del sueño relacionado con la respiración; apnea del sueño; trastorno de movimiento límbico periódico (mioclonus nocturno), síndrome de las piernas inquietas, trastorno del sueño del ritmo circadiano; trastorno del sueño del trabajador por turnos; y síndrome del jet-lag. Las parasomnias incluyen trastornos de la excitación y trastornos del sueño-vigilia; las parasomnias particulares incluyen trastornos de pesadillas, trastornos de terror nocturno, y trastorno de sonambulismo. Los trastornos del sueño asociados con una afección médica general son en particular los trastornos del sueño asociados con enfermedades tales como trastornos mentales, trastornos neurológicos, dolor neuropático, y enfermedades cardíacas y pulmonares. Los trastornos del sueño inducidos por sustancias incluyen especialmente los subtipos tipo insomnio, tipo parasomnia y tipo mixto, y especialmente incluyen afecciones debido a fármacos que causan reducción en el sueño REM como efecto secundario. Los trastornos del sueño incluyen especialmente todos los tipos de insomnias, distonías relacionadas con el sueño; síndrome de las piernas inquietas; apneas del sueño; síndrome del jet-lag; trastorno del trabajador por turnos, síndrome de la fase de sueño retrasada o adelantada, o insomnias relacionadas con trastornos psiquiátricos. Adicionalmente, los trastornos del sueño además incluyen trastornos del sueño asociados con el envejecimiento; tratamiento intermitente de insomnio crónico; insomnio transitorio situacional (ambiente nuevo, ruido) o insomnio a corto plazo debido al estrés; duelo; dolor o enfermedad.

En el contexto de la presente invención, se debe entender que, en caso de ciertas afecciones ambientales, tal como estrés o miedo (en las que el estrés puede ser de origen social (por ejemplo estrés social) o de origen físico (por ejemplo estrés físico), incluyendo estrés causado por el miedo) que facilitan o precipitan cualquiera de los trastornos o enfermedades como se definieron previamente, los presentes compuestos pueden ser particularmente útiles para el tratamiento de tales trastornos o enfermedades condicionadas ambientalmente.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para la preparación del COMPUESTO en forma enriquecida enantioméricamente, y a procedimientos para la preparación y caracterización de las formas cristalinas del COMPUESTO (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1) a 13). Dichos procedimientos se describen en las realizaciones 6) y 12), así como también en los procedimientos de la parte experimental a continuación.

Procedimientos experimentales:

Abreviaturas (como se usan anteriormente o en lo sucesivo en el presente documento):

Ac	Acetilo (tal como en OAc= acetato, AcOH= ácido acético)
AcOH	Ácido acético
anh.	Anhidro
ac.	Acuoso
atm	Atmósfera
tBME	terc-Butilmetiléter
Boc	terc-Butoxicarbonilo
Boc ₂ O	Dicarbonato de di-terc-butilo
BSA	Albúmina sérica bovina
Bu	Butilo tal como en tBu = terc-butilo = butilo terciario
CC	Cromatografía en columna sobre gel de sílice
CHO	Ovario de hámster chino
conc.	Concentrado
DCE	1,2-Dicloroetano
DCM	Diclorometano
DEA	Dietilamina
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	N,N-Dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDC ELSD	Detección evaporativa de dispersión de luz
equiv.	Equivalente(s)
EN	Electronebulización
Et	Etilo
Et ₂ O	Éter dietílico
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
Ej.	Ejemplo
FC	Cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice
FCS	Suero fetal de ternera
Fig.	figura

FLIPR	Lector de placas de imagen fluorescente
h	Hora(s)
HATU	3-óxido de hexafluorofosfato de 1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio
HBSS	Solución de sal balanceada de Hank
HBTU	Hexafluorofosfato de N,N,N',N'-Tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)uronio
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-piperazin-1-etanosulfónico
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protones
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
CL-EM	Cromatografía líquida - Espectroscopía de masas
Lit.	Bibliografía
M	Masa exacta (como se usó para CL-EM)
Me	Metilo
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
Mel	Yoduro de metilo
MHz	Megahertzio
µl	microlitro
min	Minuto(s)
EM	Espectroscopía de masas
N	Normalidad
Pd(OAc) ₂	Diacetato de paladio
Pd(PPh ₃) ₄	Tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)
PL-HCO ₃	Carbonato ácido soportado con polímero
Ph	Fenilo
PPh ₃	Trifenilfosfina
prep.	Preparativa
HR	humedad relativa
TA	Temperatura ambiente
sat.	Saturado
TBTU	Tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
Tf	Trifluorometansulfonilo
THF	Tetrahidrofurano
t _R	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta

I-Química

5 Todas las temperaturas se indican en °C. Los materiales de partida disponibles comercialmente se usaron como se recibieron sin purificación adicional. Los compuestos se purifican por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (FC) o por HPLC preparativa. Los compuestos descritos en la invención son caracterizados por CL-EM (el tiempo de retención t_R se da en min.; el peso molecular se obtiene del espectro de masa y se da en g/mol, usando las condiciones enumeradas a continuación). Si la masa es no detectable, los compuestos también son caracterizados por RMN ¹H (400 MHz: Bruker; los desplazamientos químicos se dan en ppm relativos al disolvente usado; multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete; p = pentuplete, hex = hexuplete, hept = heptuplete, m = multiplete, a = amplio, las constantes de acoplamiento se dan en Hz).

HPLC preparativa para la purificación de compuestos (condiciones C)

Columna: Waters XBridge (10 µm, 75 x 30 mm). Condiciones: MeCN [eluyente A]; agua + NH₄OH al 0,5 % (ac. al 25 %) [eluyente B]; Gradiente: 90 % de B → 5 % de B durante 6,5 min (flujo: 75 ml/min). Detección: UV + ELSD.

HPLC preparativa para la purificación de compuestos (condiciones D)

15 Columna: Waters Atlantis T3 OBD (10 µm, 75 x 30 mm). Condiciones: MeCN [eluyente A]; agua + HCOOH al 0,5 % [eluyente B]; Gradiente: 90 % de B → 5 % de B durante 6,4 min (flujo: 75 ml/min). Detección: UV + ELSD.

CL-EM con condiciones ácidas

20 Aparato: Agilent 1100 series con detección por espectroscopía de masas (EM: Finnigan single quadrupole). Columna: Agilent Zorbax SB-Aq, (3,5 µm, 4,6 x 50 mm). Condiciones: MeCN [eluyente A]; agua + TFA al 0,04 % [eluyente B]. Gradiente: 95 % de B → 5 % de B durante 1,5 min (flujo: 4,5 ml/min). Detección: UV + MS.

Análisis de difracción de polvo de rayos X (XRPD)

Se recogieron patrones de difracción de polvo de rayos X en un difractómetro Bruker D8 Advance X-ray equipado con un detector Lynxeye operado con radiación CuK_α en el modo de reflexión (acoplado con Theta/Theta). Típicamente, el tubo de rayos X se sometió a 40 kV/40 mA. Se aplicó una etapa de tamaño de $0,02^\circ$ (2θ) y etapa de tiempo de 76,8 s durante un intervalo de exploración de $3-50^\circ$ en 2θ . La ranura de divergencia se fijó a 0,3. Los polvos fueron levemente presionados en un soporte de un único cristal de sílice con una profundidad de 0,5 mm y se giraron las muestras en sus propios platos durante la medición. Los datos de difracción se indican usando radiación $\text{Cu K}\alpha_1$ y $\text{K}\alpha_2$ combinada, sin separación $\text{K}\alpha_2$. La precisión de los valores 2θ según se proporcionan en el presente documento, se encuentra en el intervalo de $\pm 0,1-0,2^\circ$ como es generalmente el caso de los patrones de difracción de polvo de rayos X registrados normalmente.

Análisis de sorción de vapor gravimétrico (GVS)

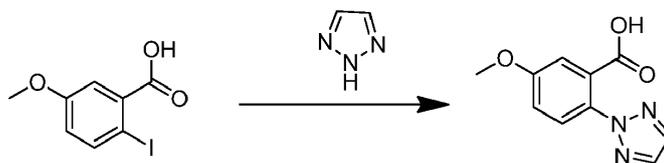
Se realizaron mediciones simultáneas para la base libre del COMPUESTO amorfo y la forma cristalina 1 y forma cristalina 2 del COMPUESTO en un instrumento para múltiples muestras SPS-100n (Projekt Messtechnik, Ulm, Alemania) operado en un modo por etapas a 25°C . Se permitió que la muestra se equilibrara a una HR del 40 % antes de empezar el programa de humedad pre-definido (40-0-95-0-95-40 % de HR, etapas de ΔRH al 5 % y se aplicaron con un tiempo de equilibrio máximo de 24 horas. Se usaron aproximadamente de 20 a 30 mg de cada muestra. La clasificación higroscópica es realizada de acuerdo con la European Pharmacopeia Technical Guide (1999, página 86), por ejemplo, ligeramente higroscópico: el aumento en masa es menor del 2 % e igual a o mayor del 0,2 % masa/masa; higroscópico: el aumento en masa es menor del 15 % e igual a o mayor del 2 % masa/masa. Se consideró el cambio de masa entre el 40 % de humedad relativa y el 80 % de humedad relativa en la primera exploración de adsorción.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los datos de DSC se recopilaron en un sistema Mettler Toledo STARe (módulo DSC822e, celda de medición con un sensor de cerámica y software STAR versión 9.20) equipado con un muestreador automático en la posición 34. El instrumento se calibró para determinar la energía y la temperatura usando indio certificado. Típicamente, se calientan 1-5 mg de cada muestra, en un tambor automático perforado de aluminio, a $10^\circ\text{C min}^{-1}$, a menos que se indique otra cosa, de -20°C a 280°C . Se mantuvo una purga de nitrógeno a 20 ml min^{-1} sobre la muestra. Las temperaturas pico se informan para los puntos de fusión.

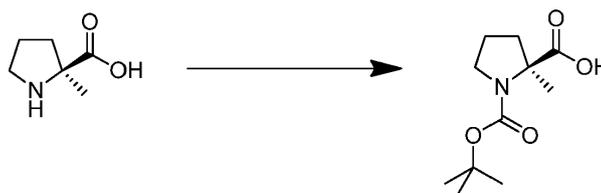
Análisis termogravimétrico (TGA)

Los datos del TGA se recopilaron en un sistema Mettler Toledo STARe (módulo TGA851e y software STAR versión 9.20) equipado con un muestreador automático de 34 posiciones. Típicamente, se calientan aproximadamente 5 mg de una muestra, en un tambor automático perforado de aluminio, a $10^\circ\text{C min}^{-1}$, a menos que se indique otra cosa, de 30°C a 250°C . Se mantuvo una purga de nitrógeno a 10 ml min^{-1} sobre la muestra.

Ejemplo de referencia 1**1) Síntesis de ácido 5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)benzoico**

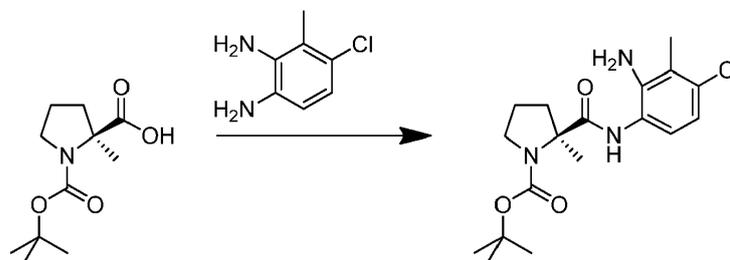
Se disolvió ácido 2-yodo-5-metoxi benzoico (15,0 g; 53,9 mmol) en DMF anhidro (45 ml) seguido de la adición de 1H-1,2,3-triazol (7,452 g; 108 mmol) y carbonato de cesio (35,155 g; 108 mmol). Al agregar el carbonato de cesio, la temperatura de reacción de la mezcla aumenta a 40°C y se forma gas a partir de la mezcla de reacción. Se añade yoduro de cobre (I) (514 mg; 2,7 mmol). Esto desencadena una fuerte reacción exotérmica y la temperatura de la mezcla de reacción alcanza 70°C en pocos segundos. La agitación se continúa durante 30 minutos. Después, la DMF se evaporó a presión reducida seguido de la adición de agua (170 ml) y EtOAc (90 ml). La mezcla se agita vigorosamente y por medio de la adición de ácido cítrico monohidrato se ajusta el pH a 3-4. El precipitado se retira por filtración y se lava con agua y EtOAc y se elimina. El filtrado se vierte en un embudo de separación y se separan las fases. La fase acuosa se extrae de nuevo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secan sobre MgSO_4 , se filtran, y el disolvente se evapora, dando 7,1 g de ácido 5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)benzoico en forma de un polvo de color blanco de una pureza del 94 % (el 6 % de impureza es el derivado triazol unido a N1 regioisoméricamente); t_R [min] = 0,60; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 220,21$

2) Síntesis de ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)-2-metilpirrolidin-2-carboxílico



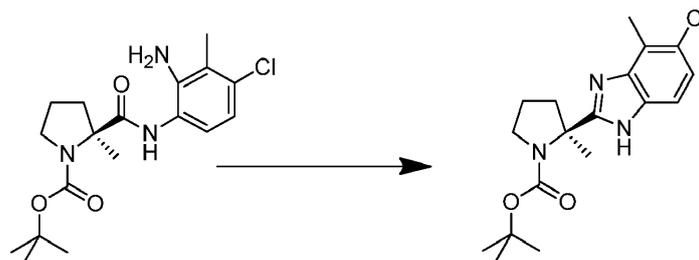
Se disuelve clorhidrato de 2-metil-L-prolina (99,7 g; 602 mmol) en una mezcla 1/1 de MeCN y agua (800 ml) y se añade trietilamina (254 ml; 1810 mmol). La temperatura de la mezcla de reacción se eleva ligeramente. La mezcla de reacción se enfría de 10 °C a 15 °C seguido de la adición cuidadosa de una solución de Boc₂O (145 g; 662 mmol) en MeCN (200 ml) durante 10 minutos. La agitación a TA continúa durante 2 horas. El MeCN se evapora a presión reducida y se añade una solución ac. de NaOH (2 M; 250 ml) a la parte ac. residual de la mezcla de reacción. La fase de agua se lava con Et₂O (2 x 300 ml) y después se enfría a 0 °C seguido de la adición lenta y cuidadosa de HCl ac. (25 %) para ajustar el pH a 2. Durante este procedimiento se forma una suspensión. El precipitado se retira por filtración y se seca a HV, dando 110,9 g del compuesto del título en forma de un polvo de color beige; t_R [min] = 0,68; [M+H]⁺ = 230,14.

3) Síntesis de 2-((2-amino-4-cloro-3-metilfenil)carbamoil)-2-metilpirrolidina-1-carboxilato de (S)-terc-butilo



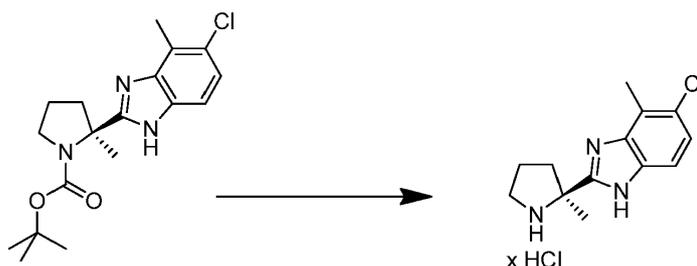
Se suspenden ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)-2-metilpirrolidina-2-carboxílico (60 g; 262 mmol) y HATU (100 g; 264 mmol) en DCM (600 ml) seguido de la adición de DIPEA (84,6 g; 654 mmol) y 6-cloro-2,3-diaminotolueno (41 g; 262 mmol). La mezcla de reacción se agita a ta durante 14 horas y después se concentra a presión reducida, y al residuo se le añade agua seguido de la extracción del producto con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO₄, se filtran y el disolvente se evapora a presión reducida, dando 185 g del compuesto del título en forma de un aceite de color parduzco oscuro, que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional; t_R [min] = 0,89; [M+H]⁺ = 368,01

4) Síntesis de 2-(5-cloro-4-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidina-1-carboxilato de (S)-terc-butilo



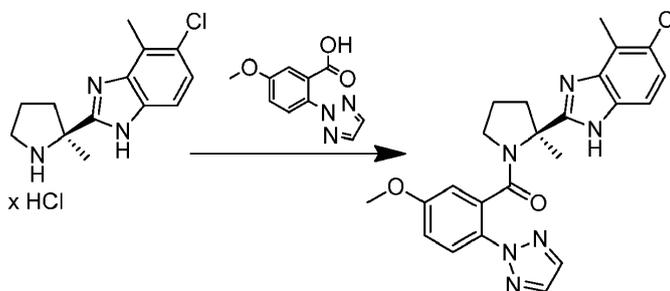
Se disuelve 2-((2-amino-4-cloro-3-metilfenil)carbamoil)-2-metilpirrolidina-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (185 g; 427 mmol) en AcOH (100 %; 611 ml), se calienta a 100 °C y la agitación continúa durante 90 minutos. El AcOH se evapora a presión reducida y el residuo se disuelve en DCM seguido de la adición cuidadosa de una solución saturada de bicarbonato sódico. Las fases se separan, la fase ac. se extrae una vez más con DCM, las fases ac. combinadas se secan sobre MgSO₄, se filtran, y el disolvente se evapora a presión reducida, dando 142,92 g del compuesto del título en forma de un aceite de color pardo oscuro que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional; t_R [min] = 0,69; [M+H]⁺ = 350,04

5) Síntesis de clorhidrato de (S)-5-cloro-4-metil-2-(2-metilpirrolidin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol



- 5 Se disuelve 2-(5-cloro-4-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidina-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (355,53 g; 1,02 mol) en dioxano (750 ml) seguido de la adición cuidadosa de una solución de HCl en dioxano (4 M; 750 ml; 3,05 mol). La mezcla de reacción se agita durante 3 horas seguido de la adición de Et₂O (800 ml) que desencadena la precipitación del producto. El sólido se retira por filtración y se seca a alto vacío, dando 298,84 g del compuesto del título en forma de un polvo de color rojizo; t_R [min] = 0,59; [M+H]⁺ = 250,23

6) Síntesis de [(S)-2-(5-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-2-metil-pirrolidin-1-il]-(5-metoxi-2-[1,2,3]triazol-2-il-fenil)-metanona



- 10 Se disuelve clorhidrato de (S)-5-cloro-4-metil-2-(2-metilpirrolidin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol (62,8 g; 121 mmol) en DCM (750 ml) seguido de la adición de ácido 5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)benzoico (62,8 g; 121 mmol) y DIPEA (103 ml; 603 mmol). La agitación continúa durante 10 minutos seguido de la adición de HATU (47 g; 124 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 16 horas a TA. Los disolventes se evaporan a presión reducida y el residuo se disuelve en EtOAc (1000 ml) y se lavó con agua (3 x 750 ml). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se purifica por CC con EtOAc/hexano = 2/1, dando 36,68 g del compuesto del título en forma de un polvo amorfo de color blanco. t_R [min] = 0,73; [M+H]⁺ = 450,96

Tabla 1: Datos de caracterización para el COMPUESTO como base libre en forma amorfa

Técnica	Resumen de los datos	Observaciones
XRPD	Amorfo	Véase la figura 1
Análisis Elemental	Consistente	
Higroscopicidad	Ligeramente higroscópico (cambio de masa de aproximadamente el 0,7 %), Histéresis y sorción de hasta un 2,7 % de humedad masa/masa. Variabilidad en comportamiento de sorción del primer a segundo ciclo	Véase la figura 4

II. Preparación de las formas cristalinas del COMPUESTO

20 Ejemplo 1: Preparación y caracterización del COMPUESTO en la forma cristalina 1

a) Preparación del material de siembra del COMPUESTO en la Forma cristalina 1

- 25 Se disolvieron 0,2 g del COMPUESTO como material amorfo en 2 ml de MeOH en un vial de 7 ml. Se dejó la muestra abierta al ambiente y se evaporó durante el fin de semana. Se formó una masa amorfa con algunos cristales como se observó bajo polares cruzados. Se añadieron 0,05 ml de MeOH, se cerró el vial y la muestra se sometió a sonicación durante 1 minuto y se calentó a 40 °C. La repetición de dicho procedimiento 3 o 4 veces condujo a cristalización adicional y después de aproximadamente 15 min, la muestra se agitó a 25 °C durante 1 h. Posteriormente, el sólido se aisló, se secó a presión reducida (2 mbar, temperatura ambiente) durante 4 horas y se dejó que alcanzara equilibrio abierto a temperatura ambiente y un 58 % de humedad relativa durante 2 horas. Se

obtuvo un polvo de color blanquecino, el cual es el COMPUESTO en forma cristalina 1. Puede ser necesario repetir tal procedimiento varias veces para obtener suficiente material para usar en la siembra.

Como alternativa, se pueden añadir 0,4 ml de una mezcla de etanol/agua con una relación volumen/volumen de 1/4 a 0,1 g del COMPUESTO como material amorfo. Se permite que la mezcla repose cerrada por hasta tres días. El aislamiento, secado y equilibrio como se ha descrito anteriormente da como resultado el COMPUESTO en la forma cristalina 1.

b) Preparación del COMPUESTO en la Forma cristalina 1

Se mezclan 2 g del COMPUESTO con 8 ml de una mezcla de etanol/agua con una relación volumen/volumen de 1/4 y se obtienen aproximadamente 0,05 g de semillas con un procedimiento como se ha descrito anteriormente. La mezcla se agita durante una noche a temperatura ambiente y el sólido se aísla, se seca a presión reducida (2 mbar, temperatura ambiente) durante 4 horas y se deja que alcance equilibrio abierto a temperatura ambiente y un 58 % de humedad relativa durante 2 horas. Se obtiene un polvo de color blanquecino, el cual es el COMPUESTO en forma cristalina 1.

Tabla 2: Datos de caracterización para el COMPUESTO en la forma cristalina 1

Técnica	Resumen de los datos	Observaciones
XRPD	Cristalino	Véase la figura 2
RMN 1H	Consistente	
DSC	Evento endotérmico amplio en el intervalo de aproximadamente 50 a 160 °C	
TGA	Pérdida de masa del 2,0 % en el intervalo de 30 a 170 °C	
Higroscopicidad	No higroscópico (cambio de masa menor del 0,1 %)	Véase la figura 5

Ejemplo 2: Preparación y caracterización del COMPUESTO en la forma cristalina 2

Se mezclaron 0,05 ml de acetonitrilo y 0,01 g del COMPUESTO en forma cristalina 1 con un agitador magnético en un vaso de 4 ml a temperatura ambiente durante hasta 3 días. El sólido se aisló y se secó a presión reducida (30 min a 2 mbar) y el sólido es el COMPUESTO en la forma cristalina 2.

Como alternativa, se mezclan 0,1 ml de metil-isobutilcetona y 0,015 g del COMPUESTO en forma cristalina 1 con un agitador magnético en un vaso de 4 ml a temperatura ambiente durante hasta 3 días. El sólido se aisló y se secó a presión reducida (2 horas a 2 mbar) y el sólido es el COMPUESTO en la forma cristalina 2.

Tabla 3: Datos de caracterización para el COMPUESTO en la forma cristalina 2

Técnica	Resumen de los datos	Observaciones
XRPD	Cristalino	Véase la figura 3
RMN 1H	Consistente	
DSC	Endotermia de fusión con un punto de fusión a aproximadamente 152 °C	
Higroscopicidad	Ligeramente higroscópico (cambio de masa de aproximadamente el 0,7 %) Histéresis y sorción de hasta un 1,1 % de humedad masa/masa.	Véase la figura 6

III. Ensayos biológicos

Para caracterizar además la actividad biológica del COMPUESTO, se midieron las actividades antagonistas en ambos receptores de orexina usando el siguiente procedimiento:

Ensayo *in vitro*: Mediciones de calcio intracelular:

Se cultivan células de ovario de hámster chino (CHO) que expresan el receptor humano de orexina-1 y el receptor humano de orexina-2, respectivamente, en un medio de cultivo (Ham F-12 con L-Glutamina) que contiene 300 µg/ml de G418, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin y suero fetal de ternera inactivado por calor al 10 % (FCS). Las células se siembran a 20.000 células/pocillo en placas estériles de fondo claro negras de 384 pocillos

(Greiner). Las placas sembradas se incuban durante una noche a 37 °C en CO₂ al 5 %.

Se prepara Orexina-A humana como un agonista como una solución de reserva 1 mM en MeOH:agua (1:1), diluida en HBSS que contiene albúmina de suero bovino al 0,1 % (BSA), NaHCO₃: 0,375 g/l y HEPES 20 mM para su uso en el ensayo a una concentración final de 3 nM.

- 5 Los antagonistas se preparan como una solución de reserva 10 mM en DMSO, después se diluyen en placas de 384 pocillos usando DMSO seguido de la transferencia de las diluciones en HBSS que contiene albúmina de suero bovino al 0,1 % (BSA), NaHCO₃: 0,375 g/l y HEPES 20 mM. En el día del ensayo, se añaden 50 µl de tampón de tinción (FCS al 1 % que contiene HBSS, HEPES 20 mM, NaHCO₃: 0,375 g/l, probenecid 5 mM (Sigma) y 3 µM del indicador de calcio fluorescente fluo-4 AM (solución de reserva 1 mM en DMSO, que contiene pluronic al 10 %) a cada pocillo.
- 10 Las placas de células de 384 pocillos se incuban durante 50 min a 37 °C en CO₂ al 5 % seguido del equilibrio a TA durante 30 min antes de la medición.

- 15 En el lector de placas de imágenes fluorescentes (FLIPR Tetra, Molecular Devices), se añaden los antagonistas a la placa en un volumen de 10 µl/pocillo, se incuban durante 120 min y finalmente se añaden 10 µl/pocillo de agonista. La fluorescencia se mide en cada pocillo en intervalos de 1 segundo, y la altura de cada pico fluorescente se compara con la altura del pico de fluorescencia inducido por una CE₇₀ aproximado (por ejemplo, 5 nM) de Orexina-A con vehículo en lugar del antagonista. El valor de CI₅₀ (la concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50 % de la respuesta agonista) se determina y puede normalizarse usando el valor de CI₅₀ obtenido de un compuesto de referencia en la placa. Las condiciones optimizadas se consiguen ajustando la velocidad de pipeteo y el régimen de separación de las células. Los valores de CI₅₀ calculados pueden fluctuar dependiendo del rendimiento del ensayo celular diariamente. Las fluctuaciones de este tipo se conocen por los expertos en la técnica. Los valores de CI₅₀ promedios de varias mediciones se dan como valores promedio.
- 20

El COMPUESTO se ha medido en el receptor de orexina-1 con un valor de CI₅₀ de 2 nM.

El COMPUESTO se ha medido en el receptor de orexina-2 con un valor de CI₅₀ de 3 nM.

Mediciones de la concentración cerebral y sistémica después de la administración oral:

- 25 Para evaluar la penetración en el cerebro, la concentración del compuesto se mide en el plasma ([P]), y el cerebro ([B]), se muestrea durante 3 h (o en diferentes puntos temporales) tras la administración oral (por ejemplo, 100 mg/kg) a ratas macho wistar. El compuesto se formula, por ejemplo, en PEG 400 al 100 %. Las muestras se recogen en el mismo animal al mismo punto temporal (+/- 5 min). Se muestrea sangre de la vena cava caudalis en recipientes con EDTA como anticoagulante y se centrifuga para producir plasma. Se muestrea el cerebro después
- 30 de la perfusión cardiaca de 10 ml de NaCl al 0,9 % y se homogeniza en un volumen de tampón fosfato frío (pH 7,4). Todas las muestras se extraen con MeOH y se analizan con CL-EM/EM. Las concentraciones se determinan con la ayuda de curvas de calibración.

Los resultados obtenidos para el COMPUESTO:

3 h después de la administración oral (100 mg/kg), n = 3): [P] = 1280 ng/l; [B] = 1808 ng/g.

- 35 Efectos sedantes: EEG, EMG e índices de comportamiento de alerta registrados por radiometría *in vivo* en ratas Wistar.

Las señales de electroencefalografía (EEG) y electromiografía (EMG) se midieron por medio de telemetría usando implantes radiotelemétricos en miniatura TL11M2-F20-EET (Data Science Int.) con dos pares de cables diferenciales.

- 40 El implante quirúrgico se realizó bajo anestesia general con Ketamina/Xilazina, para la ubicación craneal de un par diferencial de electrodos EEG y un par de cables EMG insertados en cada lado de los músculos del cuello. Después de la cirugía, las ratas se recuperaron en una cámara termorregulada y recibieron tratamiento analgésico con buprenorfina por vía subcutánea dos veces al día durante 2 d. Después, se alojaron individualmente y se dejó que se recuperaran durante un mínimo de 2 semanas. Posteriormente, las ratas, en sus jaulas de alojamiento, se colocaron en una caja ventilada con atenuación del sonido, en un ciclo de 12 h de luz/12 h de oscuridad, para su aclimatación antes de iniciar el registro de EEG/EMG continuo. La tecnología telemétrica que se usó en este estudio permite la adquisición exacta y libre de estrés de bioseñales en las ratas ubicadas en sus ambientes de jaulas familiares, sin ningún cable de registro restringiendo sus movimientos. Las variables analizadas incluían cuatro fases diferentes de vigilancia y sueño, actividad espontánea en la jaula "casa" y temperatura corporal. Las fases de sueño y vigilia se evaluaron usando un software de calificación de roedores (Somnologica Science) procesando directamente las bioseñales eléctricas en 10 s de epochs continuos. La calificación se basa en la estimación de la frecuencia para el EMG y actividad locomotora. Usando estas mediciones, el software determina la probabilidad de que todos los componentes en cada epoch representen de mejor manera la actividad en vigilia (AW), vigilia tranquila (QW), sueño no REM (NREM) o sueño REM (REM). El porcentaje de tiempo total usado en AW, QW, sueño NREM-
- 50 y REM se calculó por periodo de 12 h de luz u oscuridad. También se calculó la latencia al inicio del primer episodio significativo de sueño NREM y REM y la frecuencia y duración de estos episodios. Se midió AW, QW, sueño NREM y
- 55

5 REM, actividad en la jaula "hogar" y la temperatura corporal en el inicio durante al menos un ciclo circadiano total (12 h de noche, 12 h de día) antes de administrar un compuesto de ensayo. Si las medidas iniciales indicaron que los animales estaban estables, el compuesto de ensayo o vehículo se administró por la noche por medio de alimentación oral forzada al final del periodo inicial de 12 h de día, inmediatamente antes del aumento nocturno de Orexina y actividad en las ratas. Todas las variables se registraron posteriormente durante 12 h siguiendo la administración del antagonista del receptor de Orexina.

El COMPUESTO se ha probado en este ensayo (dosis oral: 30 mg/kg po; efectos analizados durante 6 horas): Los resultados son: -24 % en vigilia activa, -31 % en actividad en la jaula de alojamiento, +27 % en sueño NREM, +53 % en sueño REM; en comparación con los controles vehículo.

10

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona; **caracterizada por**:

- la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 8,6°, 15,2°, y 21,3°; o
- la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 13,4°, 18,3°, y 24,0°.

2. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por** la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 8,6°, 15,2°, y 21,3°; en la que dicho diagrama de difracción de polvo de rayos X se obtiene usando radiación Cu K α 1 y K α 2 combinada, sin separación de K α 2; y la precisión de los valores 2θ está en el intervalo de $2\theta \pm 0,2^\circ$.

3. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por** la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 8,6°, 11,5°, 13,4°, 14,6°, 15,2°, 15,5°, 19,3°, 21,3°, 22,4°, y 26,4°; en la que dicho diagrama de difracción de polvo de rayos X se obtiene usando radiación Cu K α 1 y K α 2 combinada, sin separación de K α 2; y la precisión de los valores 2θ está en el intervalo de $2\theta \pm 0,2^\circ$.

4. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3, que muestra esencialmente el patrón de difracción de polvo de rayos X como se representa en la Figura 2.

5. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que dicha forma cristalina es un hemihidrato.

6. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, que puede obtenerse:

- a) mezclando 2 g del COMPUESTO como material amorfo con 8 ml de una mezcla de etanol/agua con una relación volumen/volumen de 1/4;
- b) añadiendo aproximadamente 0,05 g de cristales de siembra del COMPUESTO en la forma cristalina 1;
- c) agitando a 300 rpm durante aproximadamente 16 horas a temperatura ambiente;
- d) filtrado y lavado de la torta con 2 ml de etanol/agua 1/4 (v/v) y secando el producto a temperatura ambiente y una presión reducida de aproximadamente 10 mbar durante 4 horas; y
- e) por equilibrio abierto a temperatura ambiente y una humedad relativa de aproximadamente el 60 % durante 2 horas.

7. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por** la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 13,4°, 18,3°, y 24,0°; en la que dicho diagrama de difracción de polvo de rayos X se obtiene usando radiación Cu K α 1 y K α 2 combinada, sin separación de K α 2; y la precisión de los valores 2θ está en el intervalo de $2\theta \pm 0,2^\circ$.

8. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por** la presencia de picos en el diagrama de difracción de polvo de rayos X a los siguientes ángulos de refracción 2θ : 10,9°, 13,4°, 14,3°, 14,9°, 18,3°, 20,9°, 21,1°, 21,8°, 24,0°, y 30,1°; en la que dicho diagrama de difracción de polvo de rayos X se obtiene usando radiación Cu K α 1 y K α 2 combinada, sin separación de K α 2; y la precisión de los valores 2θ está en el intervalo de $2\theta \pm 0,2^\circ$.

9. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con las reivindicaciones 7 o 8, que muestra esencialmente el patrón de difracción de polvo de rayos X como se representa en la Figura 3.

10. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que dicha forma cristalina es un anhidrato.

11. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, que puede obtenerse:

- a) mezclando 10 mg del COMPUESTO en forma cristalina 1 en 0,05 ml de acetonitrilo;
- b) agitando en un vial cerrado de 4 ml durante hasta tres días;
- c) aislando; y secando a presión reducida y temperatura ambiente durante 2 horas.

- 5 12. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso como un medicamento.
13. Una composición farmacéutica que comprende como principio activo una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 14. Una forma cristalina del compuesto S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en la fabricación de una composición farmacéutica, en la que dicha composición farmacéutica comprende como principio activo el compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona, y al menos un material de vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 15. Una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en trastornos del sueño seleccionados del grupo que consiste en disomnias, parasomnias, trastornos del sueño asociados con una afección médica general y trastornos del sueño inducidos por sustancias; trastornos de ansiedad; y trastornos de adicción.
- 20 16. Uso de una forma cristalina del compuesto (S)-(2-(6-cloro-7-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilpirrolidin-1-il)(5-metoxi-2-(2H-1,2,3-triazol-2-il)fenil)metanona de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en trastornos del sueño, trastornos de ansiedad, trastornos de adicción, disfunciones cognitivas, trastornos del estado de ánimo y trastornos del apetito.
- 25

Figura 1

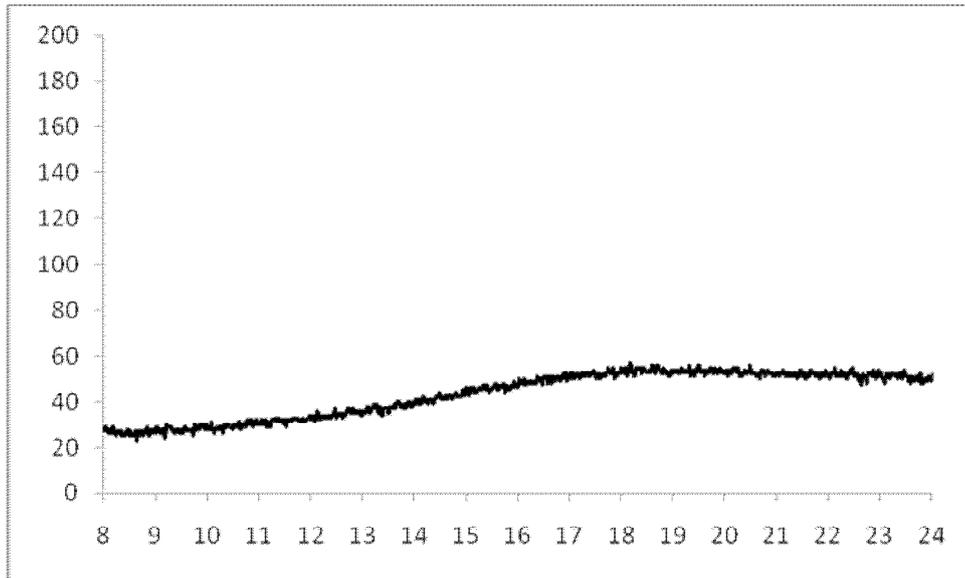


Figura 2

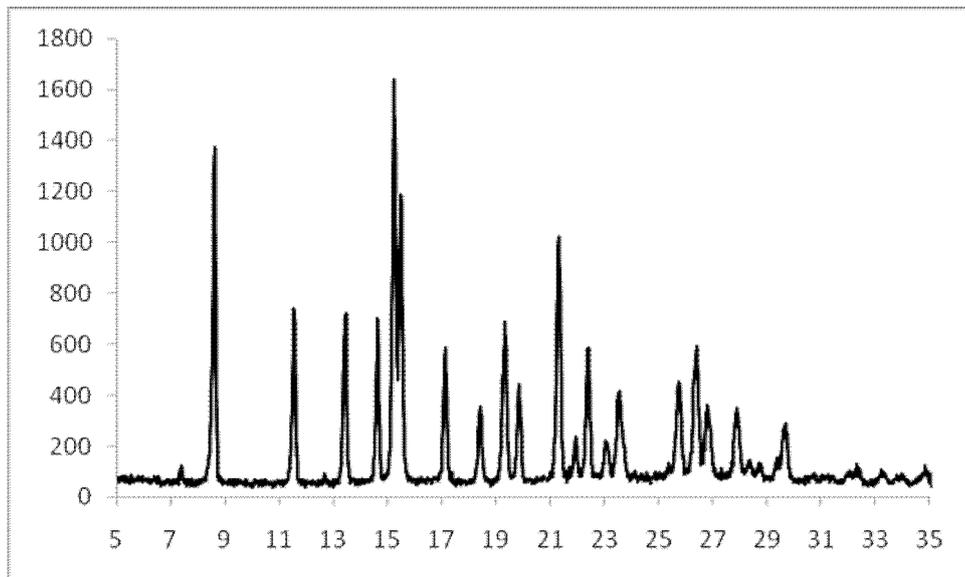


Figura 3

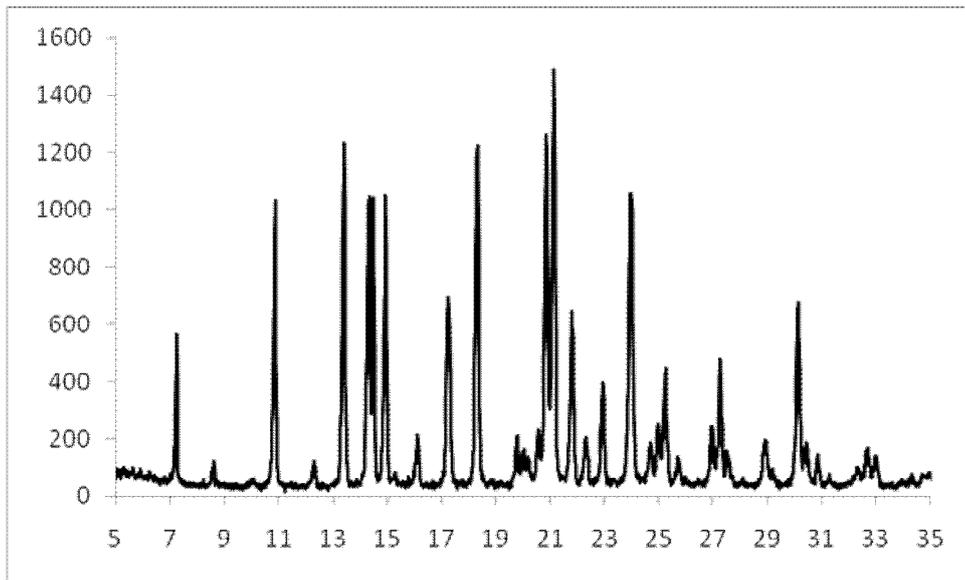


Figura 4

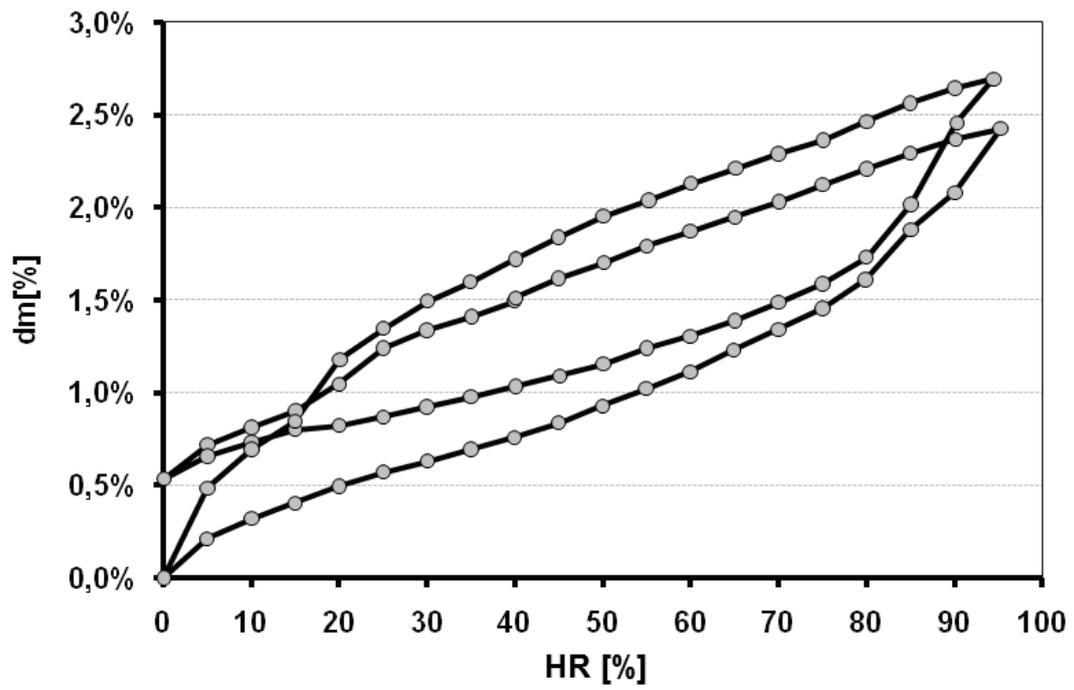


Figura 5

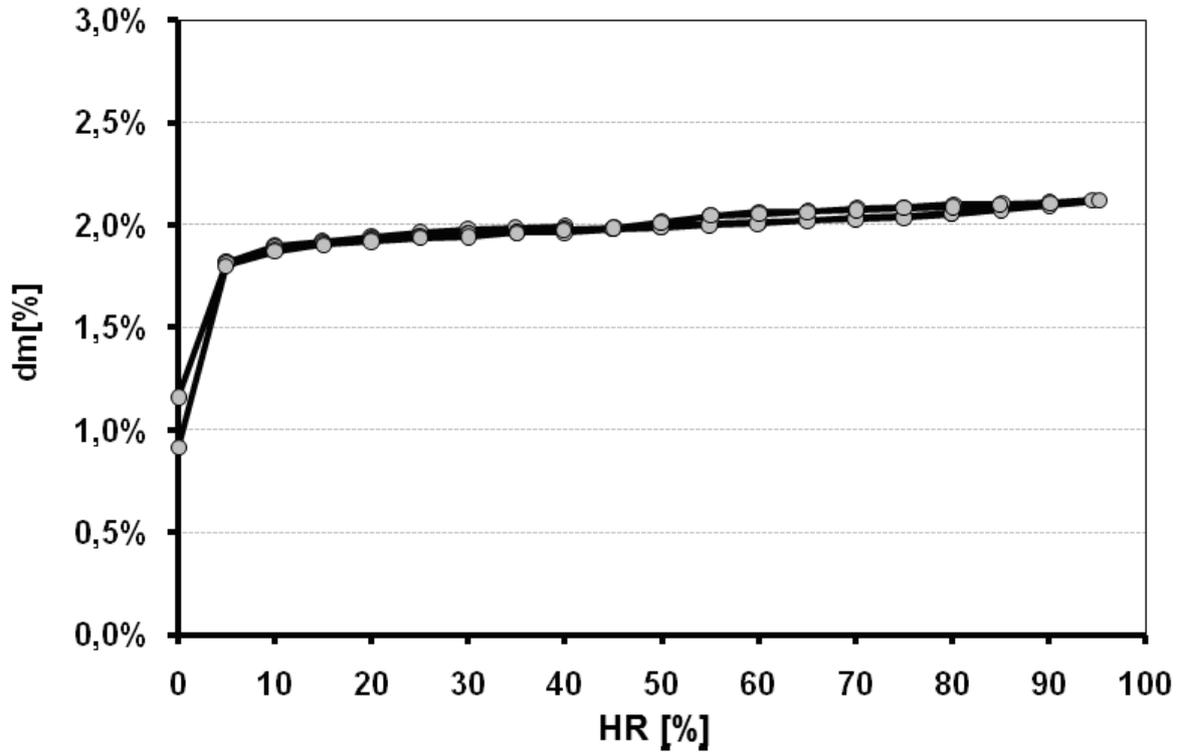


Figura 6

