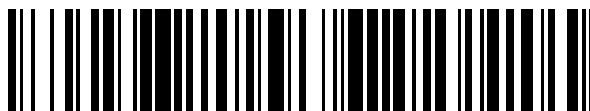


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 755**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

C07C 51/083 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2014** **PCT/US2014/065121**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.05.2015** **WO15073481**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2014** **E 14802788 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.05.2018** **EP 3068782**

54 Título: **Métodos para preparar inhibidores de la replicación de virus de la gripe**

30 Prioridad:

13.11.2013 US 201361903893 P

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

04.10.2018

73 Titular/es:

VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)

50 Northern Avenue
Boston, MA 02210, US

72 Inventor/es:

TANOURY, GERALD, J.;
NUGENT, WILLIAM, ALOYSIUS;
DVORNIKOV, VADIM S y
ROSE, PETER, JAMISON

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 684 755 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

Métodos para preparar inhibidores de la replicación de virus de la gripe

5 Referencia cruzada a solicitud relacionada

La presente solicitud PCT reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos n.º 61/903.893, presentada el 13 de noviembre de 2013. Este documento se incorpora al presente documento por referencia en su totalidad.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a procesos y a intermedios para la preparación de compuestos útiles como inhibidores de la replicación del virus de la gripe.

15 Antecedentes de la invención

La gripe se extiende por todo el mundo en epidemias estacionales, causando la muerte de cientos de miles anualmente y en años pandémicos, de millones. Por ejemplo, en el siglo XX se produjeron tres pandemias de gripe y mataron a decenas de millones de personas, estando cada una de estas pandemias causada por la aparición de una nueva cepa del virus en seres humanos. Normalmente, estas nuevas cepas son el resultado de la dispersión de un virus de la gripe conocido de otra especie animal a seres humanos.

La gripe se transmite principalmente de persona a persona mediante microgotas grandes cargadas de virus que se generan cuando las personas infectadas tosen o estornudan; estas grandes microgotas pueden asentarse en las superficies mucosas del tracto respiratorio superior de individuos susceptibles que se encuentran cerca de las personas infectadas (por ejemplo, a menos de 1,8 metros (6 pies)). La transmisión también puede producirse por el contacto directo o indirecto con secreciones respiratorias, tal como tocando superficies contaminadas con virus de la gripe y después tocando los ojos, la nariz o la boca. Los adultos pueden transmitir la gripe a otros desde 1 día antes de que comiencen los síntomas hasta aproximadamente 5 días después de que se inicien dichos síntomas. Los niños pequeños y las personas con sistemas inmunitarios debilitados pueden permanecer infecciosos durante 10 o más días después del inicio de los síntomas.

Los virus de la gripe son virus de ARN de la familia *Orthomyxoviridae*, que comprende cinco géneros: virus Influenza A, virus Influenza B, virus Influenza C, virus ISA y virus Thogoto.

El género de virus Influenza A tiene una especie, el virus de la gripe A. Las aves acuáticas salvajes son los hospedadores naturales para una gran variedad de gripe A. Ocasionalmente, los virus se transmiten a otras especies y entonces pueden causar brotes epidémicos devastadores en las aves de corral domésticas u ocasionar pandemias de gripe humana. Los virus de tipo A son los patógenos humanos más virulentos entre los tres tipos de gripe y provocan la enfermedad más grave. El virus de la gripe A puede subdividirse en diferentes serotipos, basándose en la respuesta de anticuerpo frente a estos virus. Los serotipos que se han confirmado en seres humanos, ordenados por el número de muertes pandémicas humanas conocidas son los siguientes: H1N1 (que causó la gripe española en 1918), H2N2 (que causó la gripe asiática en 1957), H3N2 (que causó la gripe de Hong Kong en 1968), H5N1 (una amenaza pandémica en la estación de gripe de 2007 - 2008), H7N7 (que tiene un potencial zoonótico infrecuente), H1N2 (endémico en seres humanos y cerdos), H9N2, H7N2, H7N3 y H10N7.

El género de virus Influenza B tiene una especie, el virus de la gripe B. La gripe B infecta de manera prácticamente exclusiva a seres humanos y es menos común que la gripe A. El otro único animal que se sabe que es susceptible a la infección por gripe B es la foca. Este tipo de gripe muta con una frecuencia 2-3 veces menor que el tipo A y por consiguiente, tiene menos diversidad genética, con un único serotipo de gripe B. A consecuencia de esta ausencia de diversidad antigénica, normalmente se adquiere a una edad temprana un grado de inmunidad frente a la gripe B. Sin embargo, la gripe B muta lo suficiente como para imposibilitar una inmunidad de larga duración. Esta reducida tasa de cambio antigénico, combinada con su intervalo de hospedadores limitado (deriva antigénica inhibidora entre especies cruzadas), asegura que no se produzcan pandemias de gripe B.

El género de virus Influenza C tiene una especie, el virus de la gripe C, que infecta a seres humanos y cerdos y puede provocar una enfermedad grave y epidemias locales. Sin embargo, la gripe B es menos común que los otros tipos y parece que normalmente causa una enfermedad leve en niños.

Los virus de la gripe A, B y C tienen una estructura muy similar. La partícula vírica tiene un diámetro de 80-120 nanómetros y normalmente es vagamente esférica, aunque pueden producirse formas filamentosas. De manera infrecuente para un virus, su genoma no es un solo trozo de ácido nucleico; en cambio, contiene siete u ocho trozos de ARN de sentido negativo segmentado. El genoma de Influenza A codifica 11 proteínas: hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), M1, M2, NS1, NS2(NEP), PA, PB1, PB1-F2 y PB2.

HA y NA son glucoproteínas grandes en la parte externa de las partículas víricas. La HA es una lectina que media la unión del virus a células diana y la entrada del genoma vírico en la célula diana, mientras que la NA está implicada en la liberación de la progenie de virus de las células infectadas, escindiendo azúcares que se unen a las partículas víricas maduras. Por tanto, estas proteínas han sido las dianas para fármacos antivíricos. Además, son antígenos contra lo que pueden generarse anticuerpos. Los virus de la gripe A se clasifican en subtipos basándose en la respuesta de anticuerpos a HA y NA, formando la base de las distinciones H y N (véase lo anterior) en, por ejemplo, H5N1.

La gripe produce costes directos a causa de la falta de productividad y el tratamiento médico asociado, así como costes indirectos de las medidas preventivas. En los Estados Unidos, la gripe es responsable de un coste total de más de 10 mil millones de dólares al año, aunque se ha estimado que una futura pandemia podría provocar costes directos e indirectos de cientos de miles de millones de dólares. Los costes preventivos también son elevados. Los gobiernos en todo el mundo han gastado miles de millones de dólares estadounidenses preparándose y elaborando planes para una pandemia de gripe aviar H5N1, con costes asociados con la compra de fármacos y vacunas, así como desarrollando simulacros de desastres y estrategias para controles fronterizos mejorados.

Las opciones actuales para el tratamiento de la gripe incluyen vacunación y quimioprofilaxis con medicaciones antivíricas. Normalmente se recomienda la vacunación con una vacuna contra la gripe para los grupos de alto riesgo, tales como niños y ancianos o en personas que tienen asma, diabetes o enfermedad cardíaca. Sin embargo, es posible contraer la gripe aun estando vacunado. La vacuna se reformula en cada estación para unas cuantas cepas específicas de la gripe pero no es posible que incluya todas las cepas que infectan de manera activa a personas en el mundo para dicha estación. Los fabricantes pueden tardar seis meses en formular y producir los millones de dosis necesarias para lidiar con las epidemias estacionales; ocasionalmente, una cepa nueva o pasada por alto se vuelve prominente durante ese tiempo e infecta a personas aunque se hayan vacunado (como por la gripe de Fuji H3N2 en la estación de gripe de 2003-2004). También es posible infectarse justo antes de la vacunación y enfermar con la misma cepa que se supone que previene la vacuna, ya que puede tardarse varias semanas en que la vacuna sea eficaz.

Además, la eficacia de estas vacunas de la gripe es variable. Debido a la alta tasa de mutación del virus, una vacuna concreta para la gripe normalmente confiere protección durante poco más de unos años. Una vacuna formulada para un año puede ser ineficaz al año siguiente, ya que el virus de la gripe cambia rápidamente con el paso del tiempo y adquieren dominancia diferentes cepas.

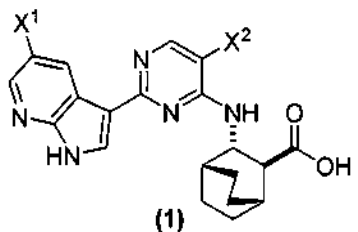
Asimismo, debido a la ausencia de enzimas de corrección de fallos en el ARN, la ARN polimerasa dependiente de ARN del ARNv de la gripe produce un solo error de inserción de nucleótidos aproximadamente cada 10 mil nucleótidos, que es la longitud aproximada del ARNv de la gripe. Por lo tanto, prácticamente cada virus de la gripe recién producido es un mutante por deriva antigénica. La separación del genoma en ocho segmentos de ARNv permite el mezclado o la reorganización de los ARNv en caso de que una sola célula se haya infectado por más de una estirpe vírica. El rápido cambio en la genética del virus produce cambios antigénicos y permite al virus infectar nuevas especies hospedadoras y superar rápidamente la inmunidad protectora.

También se han usado fármacos antivíricos para tratar la gripe, siendo particularmente eficaces los inhibidores de neuraminidasa, pero los virus pueden desarrollar resistencia a los fármacos antivíricos convencionales.

Por tanto, sigue habiendo necesidad de fármacos para tratar infecciones por gripe, tal como de fármacos con una ventana de tratamiento ampliada y/o una sensibilidad reducida al título vírico. Además, se necesitan métodos para preparar dichos fármacos de manera eficaz. El documento WO 2010/148197 divulga algunos métodos para preparar dichos fármacos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere en general a métodos de preparación del compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y a métodos de preparación de algunos compuestos intermedios para el mismo:

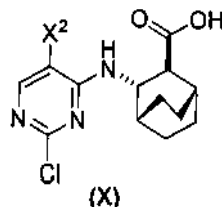


donde cada uno de X^1 y X^2 es independientemente -F o -Cl.

En una realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El método comprende

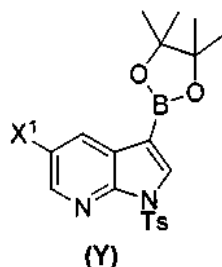
5

(a) hacer reaccionar el compuesto (X)



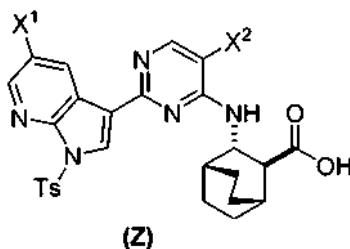
10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y)



15

en presencia de un catalizador de paladio y una base para formar el compuesto (Z)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

20

(b) desproteger el grupo Ts (tosilo) del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el catalizador de paladio se forma *in situ*. En algunas realizaciones, este catalizador de paladio es un complejo de paladio y XPhos, donde XPhos es 2-diciclohexilfosfin-2',4',6'-triisopropilbifenilo. En otras realizaciones, el complejo de paladio y XPhos se prepara *in situ* mezclando una fuente de Pd(0) o de Pd(II) con XPhos. Y, en algunas realizaciones, la fuente de Pd(0) o de Pd(II) comprende Pd₂(dba)₃, Pd(OAc)₂, PdCl₂ o cualquier combinación de los mismos, donde dba es dibencilidenacetona y OAc es acetato. Por ejemplo, el complejo de paladio y XPhos se prepara *in situ* mezclando Pd(OAc)₂ y XPhos.

25

En otras realizaciones, la base comprende una base de fosfato o una base de carbonato. Por ejemplo, la base de fosfato o la base de carbonato se selecciona entre Na₂CO₃, K₂CO₃, K₃PO₄ o Na₃PO₄.

30

En algunas realizaciones, la reacción del compuesto (X) con el compuesto (Y) para producir el compuesto (Z), tal como se proporciona en la etapa (a), anteriormente, se realiza en un sistema disolvente que comprende agua y un disolvente orgánico seleccionado entre 2-metil THF o THF o cualquier combinación de los mismos.

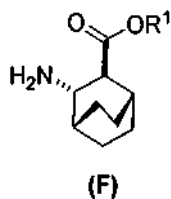
35

En otras realizaciones, la desprotección del tosilo (Ts) del compuesto (Z), tal como se proporciona en la etapa (b), comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico que comprende LiOH, NaOH, KOH o cualquier combinación de los mismos.

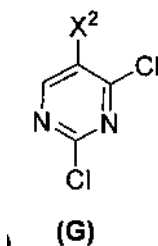
40

Algunas realizaciones comprenden también

(c) hacer reaccionar el compuesto (F)

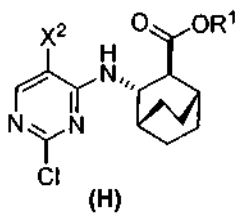


5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (G)



para formar el compuesto (H)

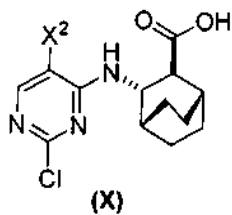
10



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R¹ es alquilo C₁₋₄; y

(d) hidrolizar el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (X)

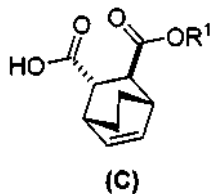
15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

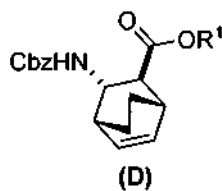
20 Algunas realizaciones comprenden también

(e) hacer reaccionar el compuesto (C)

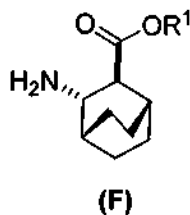


25

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida y con alcohol bencílico para formar el compuesto (D)

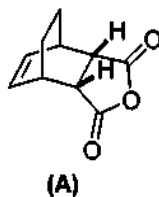


- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde Cbz es carboxibencilo; y
(f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono para formar el compuesto (F)

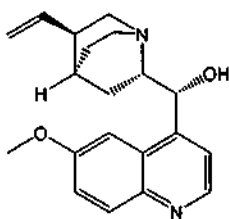


- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
Algunas realizaciones comprenden también

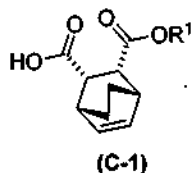
(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



- 15 con quinina

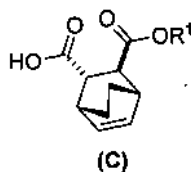


- 20 y R¹-OH para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1),



- 25 donde R¹ es alquilo C₁₋₄;
(h) romper el aducto de quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1)
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y
(i) epimerizar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (C)

30

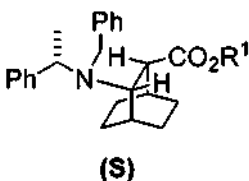


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En algunas realizaciones, la etapa de epimerización vii) comprende tratar el compuesto **(C-1)** con un alcóxido C₁₋₆. En algunas realizaciones, el alcóxido C₁₋₆ comprende *tert*-butóxido, *tert*-amilato o cualquiera de sus combinaciones. En otras realizaciones, R¹ es etilo.

Algunas realizaciones comprenden también hidrogenación del compuesto **(S)**

10



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde Ph es fenilo, en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(F)** o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, donde el catalizador de paladio comprende Pd(0) sobre carbono (Pd(0)/C), Pd(OH)₂ sobre carbono o cualquiera de sus combinaciones.

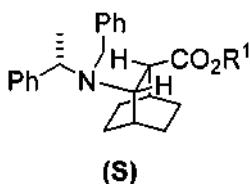
15

Algunas realizaciones comprenden también hacer reaccionar el compuesto **(R)**



20

con *S*-(-)-*N*-bencil-alfa-metilbencilamina de litio para formar el compuesto **(S)**



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

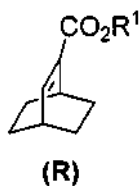
Algunas realizaciones comprenden también

- 30 (j) hacer reaccionar 1,3-ciclohexadieno con CH≡CHC(O)OR¹ en presencia de un catalizador de aluminio para formar el compuesto **(Q)**



, donde R¹ es alquilo C₁₋₄ y

(k) hidrogenar el compuesto (Q) para formar el compuesto (R)



5 En algunas realizaciones, R¹ es etilo.

En algunas realizaciones, el catalizador de aluminio comprende EtAlCl₂, Et₂AlCl, una mezcla de AlCl₃ y trioctilaluminio o cualquiera de sus combinaciones.

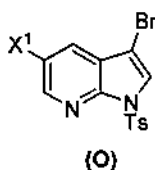
10 En algunas realizaciones, la hidrogenación del compuesto (R) comprende hacer reaccionar el compuesto (R) con H₂ en presencia de un catalizador de Rh(I) o un catalizador de Pd(0) envenenado.

En algunas realizaciones, el catalizador de Rh(I) comprende (PPh₃)₃RhCl, una mezcla de (PPh₃)₃RhCl y propiolato de etilo o cualquiera de sus combinaciones, donde Ph es fenilo.

15 En algunas realizaciones, el catalizador de Pd(0) envenenado comprende un catalizador de Pd(0) envenenado con plomo sobre CaCO₃ (Pd(Pb)/CaCO₃).

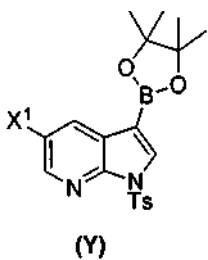
Algunas realizaciones comprenden también hacer reaccionar el compuesto (O)

20



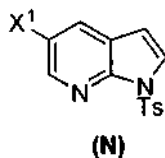
con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio que comprende un ligando de fosfina para formar el compuesto (Y)

25



En algunas realizaciones, el catalizador de paladio que comprende un ligando de fosfina es Pd(Ph₃P)₄.

30 Algunas realizaciones comprenden también tratar el compuesto (N)

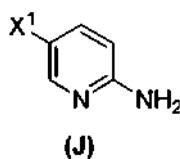


35 con un agente de bromación que comprende Br₂, N-bromosuccinimida, 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína o cualquiera de sus combinaciones para formar el compuesto (O).

Algunas realizaciones comprenden también

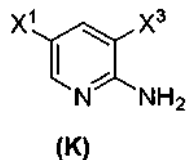
(1) hacer reaccionar el compuesto (J)

40



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un agente de yodación o un agente de bromación para formar el compuesto (K)

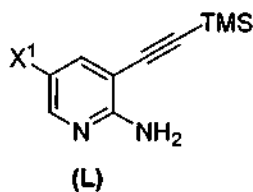
5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X³ es Br o I;

(m) hacer reaccionar el compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto (L)

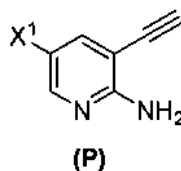
10



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde TMS es trimetilsililo;

(n) hacer reaccionar el compuesto (L) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con una base de alcóxido C₁₋₆ para formar el compuesto (P)

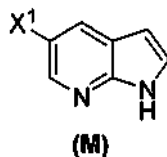
15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(o) hacer reaccionar el compuesto (P) con *tert*-butóxido potásico, *tert*-amilato potásico o cualquiera de sus combinaciones para formar el compuesto (M)

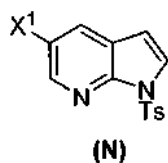
20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y

(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N)

25



En algunas realizaciones, la base de alcóxido C₁₋₆ comprende *tert*-amilato potásico, *tert*-butóxido potásico, metóxido potásico, *tert*-amilato sódico, *tert*-butóxido sódico, metóxido sódico o cualquiera de sus combinaciones.

30

En algunas realizaciones, la reacción del compuesto (**K**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno se realiza en presencia de un catalizador de paladio que comprende $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ o cualquiera de sus combinaciones, un catalizador de haluro de cobre (I) o cualquiera de sus combinaciones.

En algunas realizaciones, la reacción del compuesto (**K**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno se realiza en presencia de CuI , $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ o cualquiera de sus combinaciones.

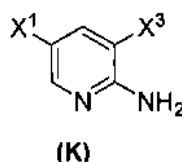
En algunas realizaciones, la etapa de tosilación (xiv) se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto (**M**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con TsCl .

En algunas realizaciones, el compuesto (**J**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se hace reaccionar con un agente de yodación que comprende I_2 , ICl , *N*-yodosuccinimida y donde X^3 es I. En otras realizaciones, el agente de yodación es I_2 .

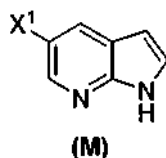
En algunas realizaciones, el compuesto (**J**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se hace reaccionar con un agente de bromación que comprende Br_2 , *N*-bromosuccinimida, 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína o cualquiera de sus combinaciones y donde X^3 es Br. En otras realizaciones, el agente de bromación es Br_2 .

Algunas realizaciones comprenden también

(q) hacer reaccionar el compuesto (**K**)

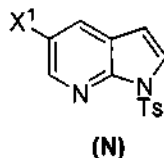


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio que comprende una mezcla de bis(dibencilidenoacetona) paladio y un ligando de fosfina terciaria, PR_3 , donde R es alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{5-6} para formar el compuesto (**M**)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X^3 es Br o I y

(p) tosilar el compuesto (**M**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (**N**)



En algunas realizaciones, el ligando de fosfina terciaria, PR_3 comprende $\text{P}^t(\text{Bu})_3$, PCy_3 , $\text{P}(i\text{-Pr})_3$, $\text{P}(\text{Bu}_3)$, PEt_3 , PMe_3 o cualquiera de sus combinaciones. Por ejemplo, el ligando de fosfina terciaria comprende $\text{P}^t(\text{Bu})_3$.

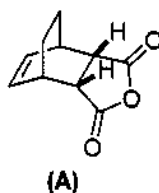
Algunas realizaciones comprenden también tratar el compuesto (**1**), después de la etapa de desprotección (b), con HCl en un sistema disolvente que comprende agua y uno o más disolventes orgánicos para formar una sal de HCl del compuesto (**1**), donde el disolvente orgánico se selecciona entre acetonitrilo, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, *N,N*-dimetilacetamida, *N,N*-dimetilformamida, 1,4-dioxano, 2-etoxietanol, etilenglicol, formamida, hexano, metanol, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, *N*-metilpirrolidona, nitrometano, piridina, sulfolano, tetrahydrofurano (THF), tetralina, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, xileno, ácido acético, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, éter de *tert*-butilmetilo, cumeno, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, metil isobutil cetona, 2-metil-1-propanol, dimetilsulfóxido, etanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, ácido

fórmico, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, acetato de propilo o cualquiera de sus combinaciones. En algunas realizaciones, los disolventes orgánicos del sistema disolvente se seleccionan entre el grupo que consiste en 2-etoxietanol, etilenglicol, metanol, 2-metoxietanol, 1-butanol, 2-butanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, etanol, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, metil butil cetona, acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetato de butilo, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, piridina, tolueno y xileno.

En algunas realizaciones, el sistema disolvente comprende agua y acetona o agua e isopropanol.

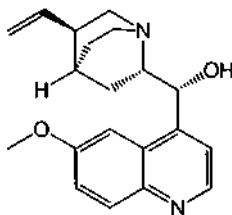
- 10 En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el método comprende:

(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



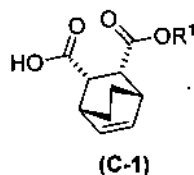
15

con quinina



20

y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1)

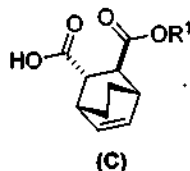


25

, donde R¹ es etilo;

(h) romper el aducto de la quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(i) epimerizar el compuesto (C-1) al compuesto (C)

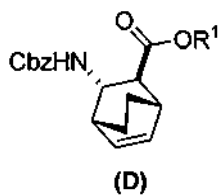


30

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

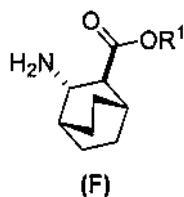
(e) hacer reaccionar el compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida y alcohol bencílico para formar el compuesto (D)

35



donde Cbz es carboxilbencilo;

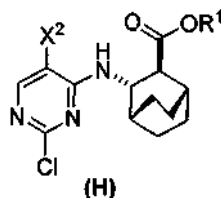
- 5 (f) hacer reaccionar el compuesto **(D)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H_2 en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar el compuesto **(F)**



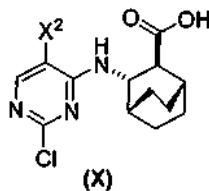
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(c) hacer reaccionar el compuesto **(F)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto **(G)**



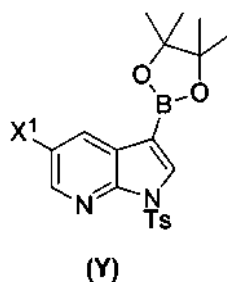
- 15 para formar el compuesto **(H)**



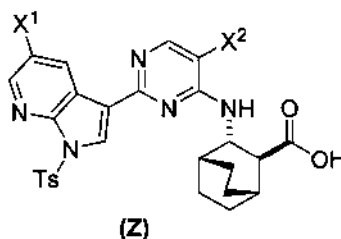
- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(d) hidrolizar el compuesto **(H)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(X)**



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(a) hacer reaccionar el compuesto **(X)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto **(Y)**



en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Z)

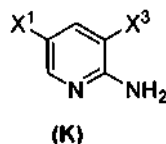


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

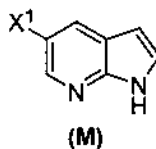
(b) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X^1 y X^2 son independientemente -F o -Cl; y cada R^1 es independientemente etilo.

En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el método comprende:

(q) hacer reaccionar el compuesto (K)

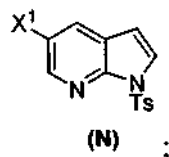


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (M)

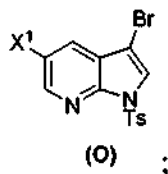


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

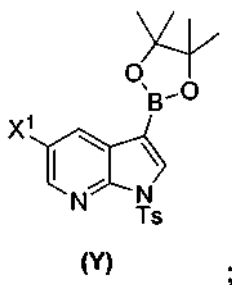
(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N)



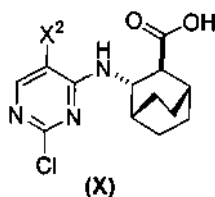
(s) bromar el compuesto (N) para formar el compuesto (O)



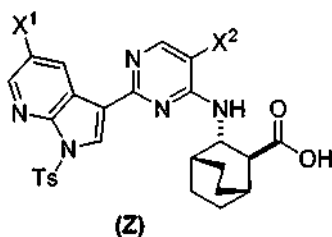
(t) hacer reaccionar el compuesto (O) con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Y)



(a) hacer reaccionar el compuesto (X)



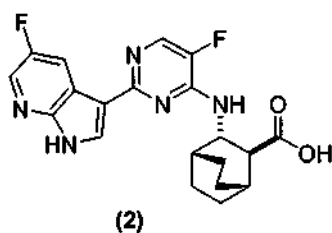
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y) en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Z)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

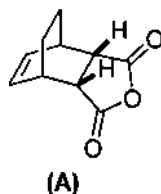
(b) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. X¹ y X² son independientemente -F o -Cl; X³ es -Br; y cada R¹ es independientemente etilo.

En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto (2):

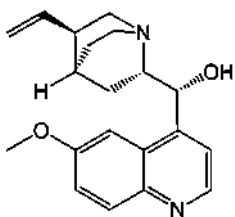


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el método comprende:

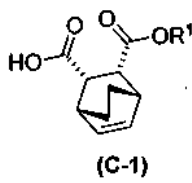
(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



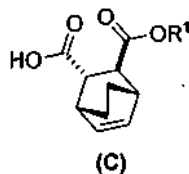
5 con quinina



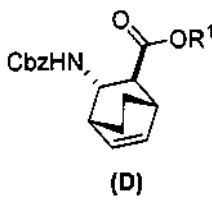
10 y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1)



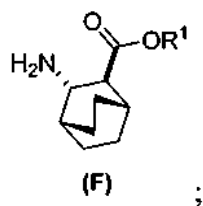
15 (h) romper el aducto de la quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1);
(i-1) hacer reaccionar el compuesto (C-1) con un alcóxido C₁₋₆ seleccionado entre *tert*-butóxido o *tert*-amilato para formar el compuesto (C)



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(e) hacer reaccionar el compuesto (C) con difenilfosforil azida y después con alcohol bencílico para formar el compuesto (D)



25 (f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar una sal de HCl del compuesto (F)

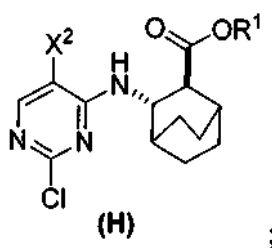


(r) hacer reaccionar la sal de HCl del compuesto **(F)** con el compuesto **(G)**



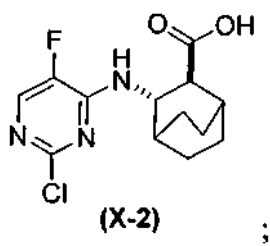
5

para formar
el compuesto **(H)**



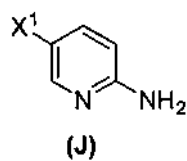
10

(h-1) hidrolizar el compuesto **(H)** para formar el compuesto (X-2)



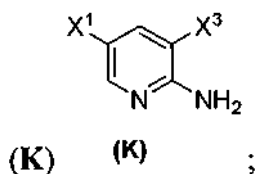
15

(1) yodar o bromar el compuesto **(J)**

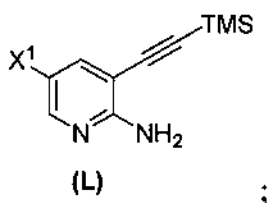


20

para formar el compuesto **(K)**

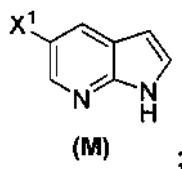


(q-1) hacer reaccionar el compuesto (K) con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto (L)



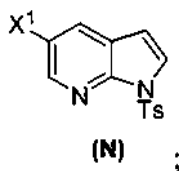
5

(j) hacer reaccionar el compuesto (L) con un alcóxido C₁₋₆ para formar el compuesto (M)



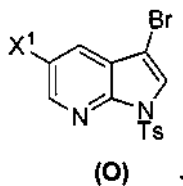
10

(k) tosilar el compuesto (M) para formar el compuesto (N)



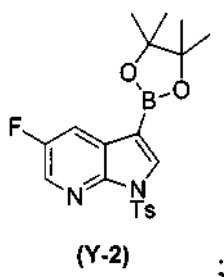
15

(s) bromar el compuesto (N) para formar el compuesto (O)



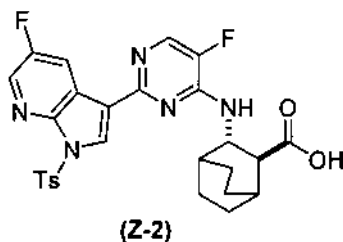
20

(t) hacer reaccionar el compuesto (O) con bis(pinacolato)diboro en presencia de Pd(Ph₃P)₄ para formar el compuesto (Y-2)



(a) hacer reaccionar el compuesto (X-2) con el compuesto (Y-2) en presencia de un complejo de paladio-XPhos y

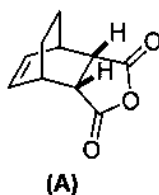
una base de fosfato o carbonato seleccionada entre K_2CO_3 o K_3PO_4 para formar el compuesto **(Z-2)**:



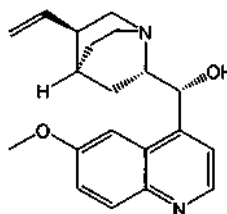
- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
 (b) desproteger el grupo Ts del compuesto **(Z-2)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(2)** una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y donde: Cbz es carboxilbencilo; XPhos es 2-diciclohexilfosfin-2',4',6'-triisopropilbifenilo; cada R^1 es independientemente etilo; cada X^1 es independientemente F; cada X^2 es independientemente F y cada X^3 es independientemente Br o I.

10 En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto **(C)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

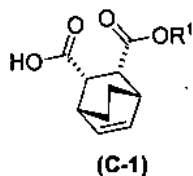
- 15 (g) hacer reaccionar el compuesto **(A)**



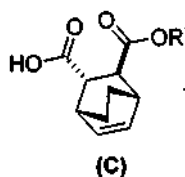
con quinina



20 y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto **(C-1)**



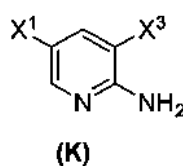
- 25 donde R^1 es etilo;
 (h) romper el aducto de la quinina y el compuesto **(C-1)** tratando el aducto con HCl para formar el compuesto **(C-1)**;
 (i) epimerizar el compuesto **(C-1)** al compuesto **(C)**
- 30



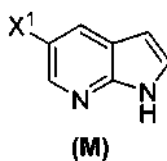
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar el compuesto (N), que comprende:

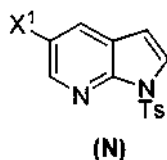
(q) hacer reaccionar el compuesto (K)



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (M)



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X¹ es F o Cl y X³ es Br y
(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N):



20 Descripción del dibujo

La FIG. 1 es una gráfica que muestra la ABC de dispersión vírica para el grupo de dosis de 1200 mg/600 mg de la forma A de sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O en un modelo de exposición a virus de la gripe vivo atenuado en seres humanos.

Descripción detallada de la invención

I. ABREVIATURAS UTILIZADAS COMÚNMENTE

30 ACN	acetonitrilo
tBuOAc	acetato de <i>terc</i> -butilo
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
DCM	diclorometano
EtOAc	acetato de etilo
IPAc	acetato de iso-propilo
MIBK	metil iso-butil cetona

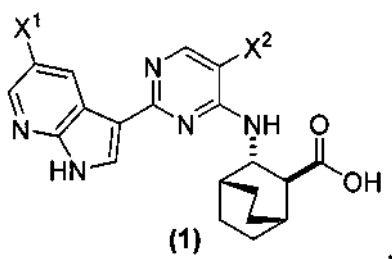
TEA	triethylamina
THF	tetrahidrofurano
PG	grupo protector
LG	grupo saliente
Ac	acetilo
TMS	trimetilsililo
TBS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
TIPS	tri- <i>iso</i> -propilsililo
TBDPS	<i>tert</i> -butildifenilsililo
TOM	tri- <i>iso</i> -propilsililoximetilo
DMP	peryodino de Dess-Martin
IBX	ácido 2-yodoxibenzoico
DMF	dimetilformamida
MTBE	metil- <i>tert</i> -butiléter
TBAF	fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
d.e.	exceso diastereomérico
e.e.	exceso enantiomérico
r.d.	relación diastereomérica
DMSO	dimetilsulfóxido
TCA	ácido tricloroacético
ATP	adenosina trifosfato
EtOH	etanol
Ph	fenilo
Me	metilo
Et	etilo
Bu	butilo
DEAD	diethylazodicarboxilato
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico
DTT	ditiotreitól
MOPS	ácido 4-morfolinopropanosulfónico
RMN	resonancia magnética nuclear
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
CLEM	cromatografía líquida-espectrometría de masas
TLC	cromatografía de capa fina
Tr	tiempo de retención
HOBt	hidroxibenzotriazol
Ms	mesilo
Ts	tosilo
Tf	trifilo
Bs	besilo
Ns	nosilo
Cbz	carboxibencilo
Moz	<i>p</i> -metoxibencilcarbonilo
Boc	<i>tert</i> -butiloxycarbonilo
Fmoc	9-fluorenilmetiloxycarbonilo
Bz	benzoílo
Bn	bencilo
PMB	<i>p</i> -metoxibencilo

ABC	área bajo la curva
DMPM	3,4-dimetoxibencilo
PMP	<i>p</i> -metoxifenilo
XRPD	difracción de rayos X de polvo

II. PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS

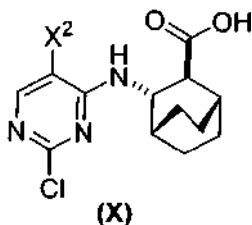
Es preciso señalar que las etapas indicadas en el presente documento pueden llevarse a cabo en cualquier orden cronológico sin tener en cuenta la etapa de la letra. Por ejemplo, la etapa (a) puede preceder o seguir a la etapa (g), la etapa (e), la etapa (f) o la etapa (s).

El compuesto (1), el compuesto (2) (donde X^1 y X^2 del compuesto (1) son ambos -F) y sus sales farmacéuticamente aceptables son inhibidores de la replicación de los virus de la gripe y pueden usarse para tratar la gripe en un paciente,

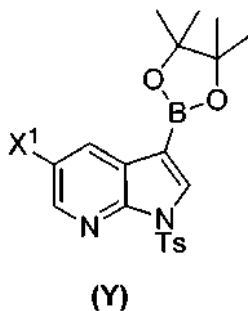


tal como se describe en el documento WO 2010/148197. En una realización específica, X^1 es -F y X^2 es -F. En otra realización específica, X^1 es -Cl y X^2 es -F. En otra realización específica más, X^1 es -Cl y X^2 es -Cl. En otra realización específica más, X^1 es -F y X^2 es -Cl.

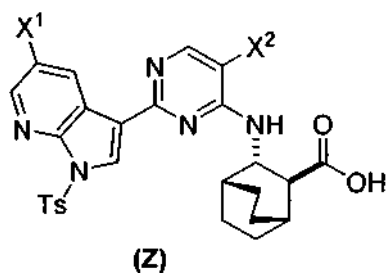
En una realización, los compuestos (1) y (2) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse como se representa en el esquema 1: (a) hacer reaccionar el compuesto (X):



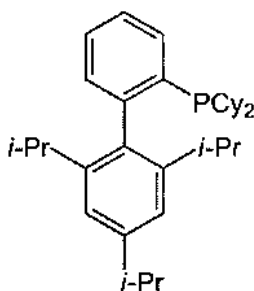
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y):



en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o carbonato para formar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



; y (b) desproteger el grupo tosilo (Ts) del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. X¹ es -F o -Cl; Ts es tosilo; y XPhos es 2-diciclohexilfosfin-2',4',6'-triisopropilbifenilo (donde Cy es ciclohexilo e *i*-Pr es isopropilo).

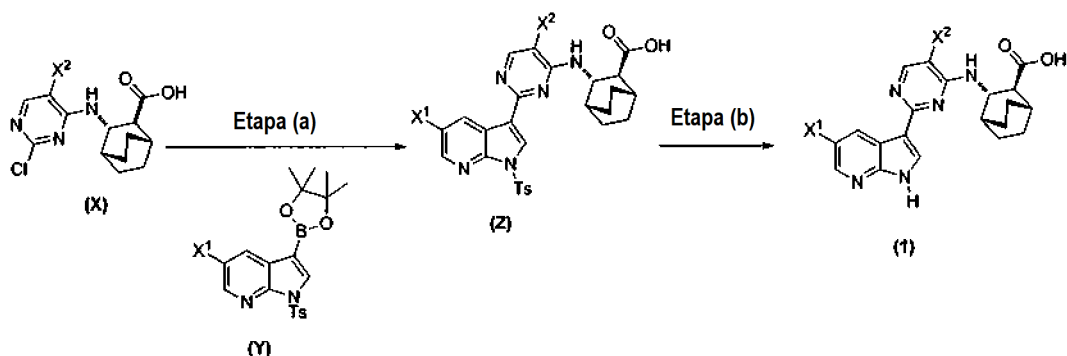


El complejo de paladio-XPhos puede emplearse en forma de un reactivo preparado con antelación o, como alternativa, puede prepararse *in situ*. En una realización específica, el complejo de paladio-Xphos se prepara mezclando una fuente de Pd(0) o Pd(II) con XPhos. Los ejemplos habituales de fuentes de Pd(0) o Pd(II) incluyen Pd₂(dba)₃, Pd(OAc)₂ y PdCl₂, donde dba es dibencilidenacetona y OAc es acetato. En una realización específica, el complejo de paladio-XPhos se prepara *in situ* mezclando Pd(OAc)₂ y XPhos.

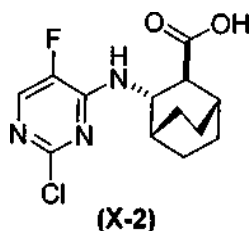
La reacción del compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el compuesto (Y) se realiza en presencia de una base de fosfato o carbonato. Los ejemplos habituales de bases de fosfato o carbonato incluyen Na₂CO₃, K₂CO₃, K₃PO₄ y Na₃PO₄. En una realización específica, la base incluye K₂CO₃ o K₃PO₄. En otra realización específica, la base incluye K₂CO₃. En otra realización más, la base incluye K₃PO₄.

La reacción del compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el compuesto (Y) puede llevarse a cabo en cualquier sistema disolvente adecuado. En una realización específica, esta se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y un disolvente orgánico seleccionado entre 2-MeTHF o THF o una combinación de los mismos. En otra realización específica, esta se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y THF. En otra realización específica, esta se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y 2-MeTHF.

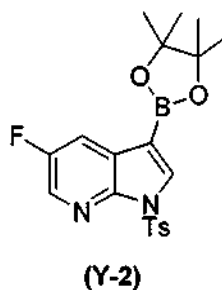
La etapa de desprotección (b) puede llevarse a cabo en cualquier condición adecuada conocida en la técnica para la desprotección del grupo tosilo. En una realización específica, la etapa de desprotección emplea tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico. Los ejemplos habituales de hidróxidos inorgánicos adecuados incluyen LiOH, NaOH y KOH. En una realización específica, se emplea LiOH. En otra realización específica, la etapa de desprotección (b) emplea LiOH en un sistema disolvente que incluye THF.

Esquema 1:

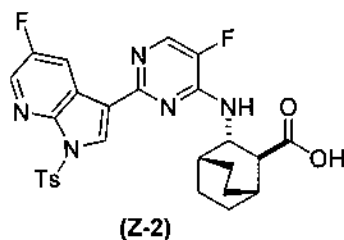
- 5 En otra realización, el compuesto (2) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo pueden prepararse tal como se representa en el Esquema 1-A: (a) hacer reaccionar el compuesto (X-2):



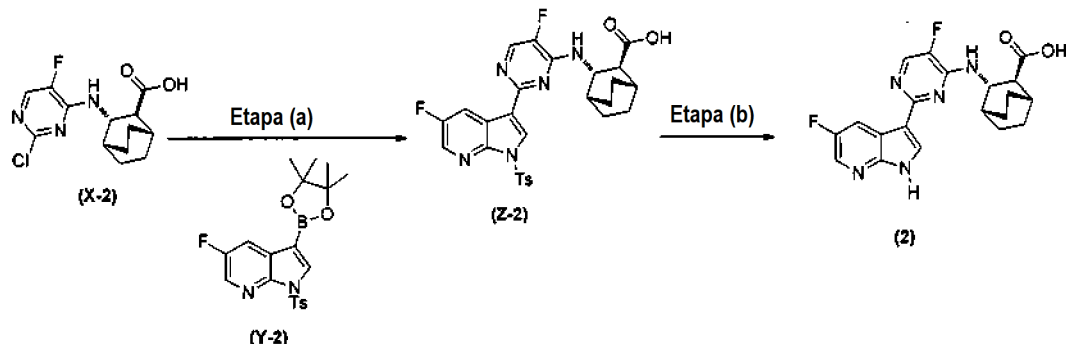
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y-2):



- 15 en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o carbonato para formar el compuesto (Z-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



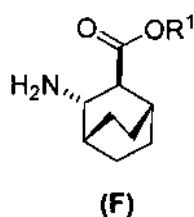
- 20 ; y (b) desproteger el grupo tosilo (Ts) del compuesto (Z-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las condiciones de reacción adecuadas para cada una de las etapas (a) y (b) y sus ejemplos específicos, incluyendo la base de fosfato o carbonato, son como se han descrito anteriormente para el esquema 1.

Esquema 1-A:

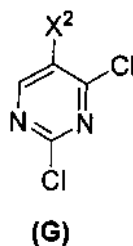
5 En otra realización, la etapa (a) de los esquemas 1 y 1-A (por ejemplo, las reacciones entre los compuestos (X) e (Y) y entre los compuestos (X-2) e (Y-2)) puede emplear también un secuestrante de Pd (por ejemplo, resina o carbono) después de las reacciones, pero antes de la etapa de desprotección (b) del grupo Ts para eliminar o reducir las cantidades de cualquier catalizador de Pd residual. Un ejemplo habitual de secuestrantes de Pd adecuados incluye una resina de trimercaptotriazina unida a poliestireno (por ejemplo, una resina MP-TMP).

10 Los métodos de la invención para preparar los compuestos (1) y (2) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como se representa en los esquemas 1 y 1-A, emplean los compuestos (X) y (Z), cada uno de los cuales tiene un grupo ácido carboxílico libre. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, el uso de los compuestos (X) y (Z) en lugar de los ésteres correspondientes de los mismos, puede proporcionar los compuestos enantioméricos puros (1) y (2) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de manera más conveniente y eficiente, puesto que los compuestos (X) y (Z) normalmente son sólidos mientras que sus ésteres correspondientes son aceites. Un material oleoso generalmente es difícil de purificar en comparación con un material sólido, lo cual puede perjudicar el rendimiento total y/o la pureza enantiomérica del producto final, especialmente en una preparación a gran escala, tal como una producción comercial de los compuestos (1) y (2) o sus sales farmacéuticamente aceptables. En particular, los ésteres correspondientes de los compuestos (X) y (Z) normalmente se someten a epimerización (por ejemplo, durante la reacción de Suzuki del compuesto (X) al compuesto (Z) y durante la desosilación de Ts del compuesto (Z)), lo cual puede perjudicar el rendimiento total y/o la pureza enantiomérica del producto final.

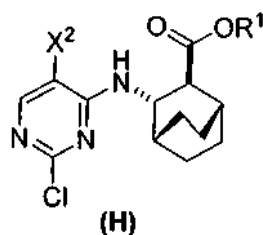
25 En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación de los compuestos (X) y sus sales farmacéuticamente aceptables, tal como se muestra en el esquema 2 a continuación. La preparación comprende: (c) hacer reaccionar el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



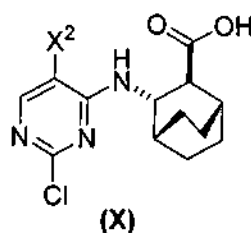
30 con el compuesto (G):



35 para formar el compuesto (H):

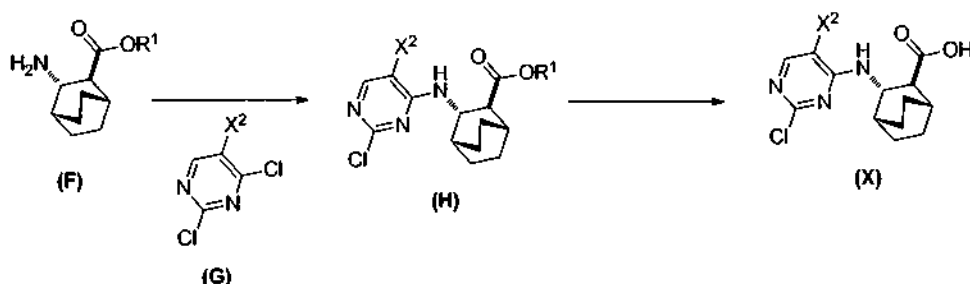


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (d) hidrolizar el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (X):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. R¹ es alquilo C₁₋₄, tal como etilo o metilo. En una realización específica, R¹ es etilo. En otra realización específica, R¹ es metilo.

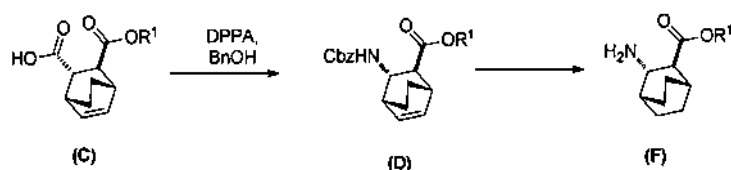
Esquema 2:



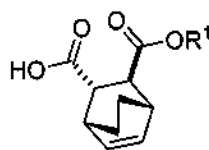
- 15 El acoplamiento entre el compuesto (G) y el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (etapa c) y la hidrólisis del compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (etapa d) puede realizarse en cualquier condición adecuada conocida en la técnica. En una realización específica, el acoplamiento entre el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el compuesto (G) se realiza a una temperatura en un intervalo de 15 °C a 40 °C (por ejemplo, de 25 °C a 35 °C) en presencia de una base, tal como una base de amina. Los ejemplos habituales de dichas bases de amina incluyen N,N, diisopropiletilamina, trietilamina, N,N-dietilmetilamina, etc. En otra realización específica, la hidrólisis del compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se realiza en presencia de una base, tal como una base inorgánica. Los ejemplos habituales de dichas bases inorgánicas incluyen LiOH, NaOH, KOH, etc. En otra realización específica más, la hidrólisis se realiza tratando el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con LiOH a una temperatura en un intervalo de 20 °C a 50 °C, tal como de 35 °C a 50 °C (por ejemplo, 45 °C).

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se muestra en el Esquema 3 a continuación.

Esquema 3:



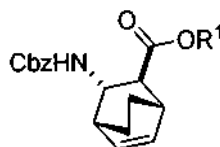
La preparación del compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo comprende: (e) hacer reaccionar el compuesto (C):



(C)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida (DPPA) y después con alcohol bencílico para formar el compuesto (D):

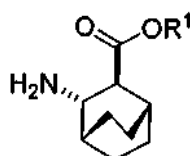
5



(D)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar el compuesto (F)

10



(F)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cbz es carboxibencilo.

15

La reacción del compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con DPPA y con alcohol bencílico para formar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede realizarse en cualquier condición adecuada para la transposición de Curtius. Sin pretender quedar ligado a una teoría en particular, durante la transposición de Curtius, se forma un intermedio acilnitreno por la reacción del DPPA con el compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual después se reordena en un intermedio isocianato. El intermedio isocianato reacciona con alcohol bencílico posteriormente para producir la amina protegida con Cbz del compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización específica, la transposición de Curtius se realiza a una temperatura en un intervalo de 60 °C a 100 °C, tal como de 90 °C a 100 °C o de 95 °C a 100 °C. En una realización específica, la reacción se realiza en presencia de una base, tal como una base de amina. Los ejemplos habituales de dichas bases de amina incluyen trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, N,N-dietilmetilamina, etc. En otra realización específica, la transposición de Curtius se realiza usando un aparato de flujo a una temperatura elevada, tal como de 90 °C a 110 °C.

20

25

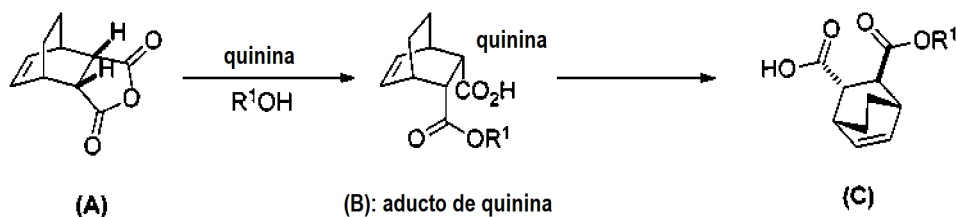
La hidrogenación del doble enlace con la desprotección del grupo Cbz del compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede realizarse en cualquier condición conocida en la técnica para la hidrogenación general de un doble enlace y la desprotección del grupo Cbz. En una realización específica, El compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo reacciona con H₂ en presencia de un catalizador de Pd(0) sobre carbono (Pd/C), tal como Pd al 10 % (en peso sobre base seca)/C. En otra realización específica, el producto de reacción del compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ se vuelve a tratar con HCl en etanol para formar una sal de HCl del compuesto (F).

30

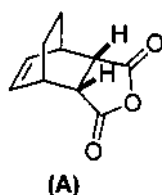
35

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se muestra en el esquema 4 a continuación.

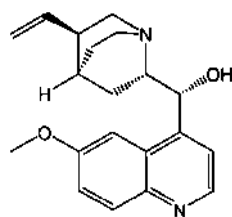
40

Esquema 4:

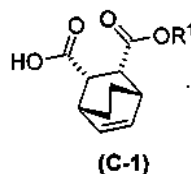
La preparación del compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo comprende: (g) hacer reaccionar el compuesto (A):



con quinina:

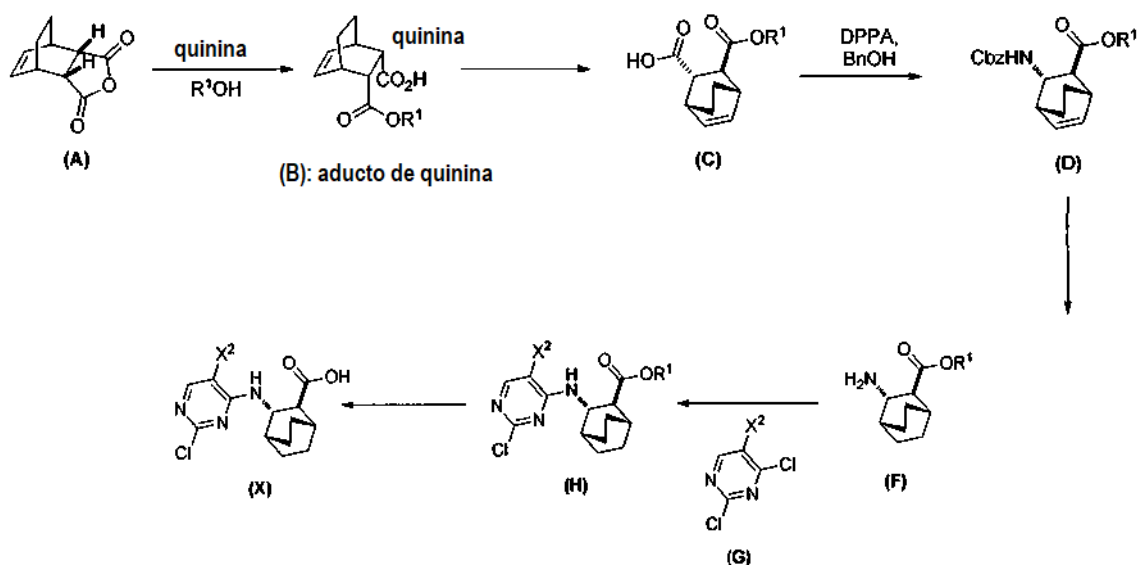


y R¹OH para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1):



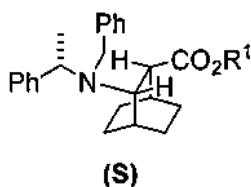
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (h) romper el aducto tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R¹ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo o butilo); y epimerizar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización específica, R¹ es etilo. La epimerización del compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede realizarse empleando cualquier condición adecuada conocida en la técnica. Normalmente, esta se realiza tratándolo con una base, tal como un alcóxido. En una realización específica, se emplea un alcóxido C₁₋₆ (por ejemplo, alcóxido C₁₋₆ de metal alcalino, (por ejemplo, sodio o potasio) o de metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio o magnesio)). En otra realización específica, se emplea un *tert*-butóxido (por ejemplo, *tert*-butóxido de potasio) o un *tert*-amilato (por ejemplo, *tert*-amilato de potasio).

En una realización específica, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se representa en el esquema 5 a continuación.

Esquema 5:

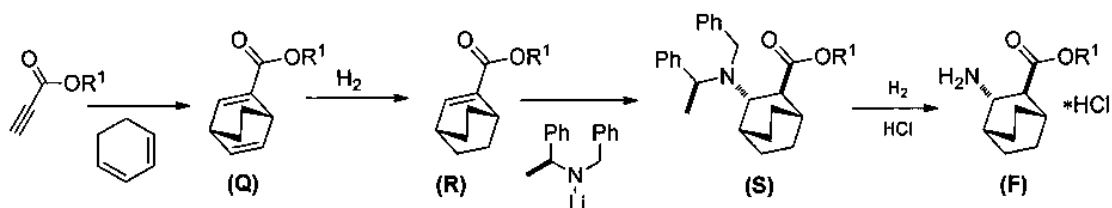
- 5 Las condiciones de reacción adecuadas para cada una de las etapas del esquema 5 y sus ejemplos específicos son como se describe anteriormente.

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización específica, se prepara una sal de HCl del compuesto (F) (por ejemplo, véase el esquema 6). La preparación comprende someter a hidrogenólisis el compuesto (S):

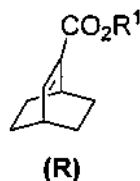


- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde Ph es fenilo, en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (F) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, donde Ph es fenilo. Normalmente, hidrogenólisis se refiere a una reacción química donde un enlace sencillo carbono-carbono o carbono-heteroátomo (por ejemplo, N, O, o S) se somete a "lisis" mediante hidrógeno. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, durante la hidrogenólisis del compuesto (S) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, los enlaces carbono-nitrógeno de $-N(CH_2Ph)(CH(CH_3)Ph)$ del compuesto (S) se escinden. Normalmente la hidrogenólisis se lleva a cabo catalíticamente usando gas hidrógeno. Los ejemplos adecuados de catalizadores de paladio para la etapa de la hidrogenólisis incluyen Pd(0) sobre carbono (Pd/C), Pd(OH)₂ sobre carbono (Pd(OH)₂/C) y una combinación de los mismos.

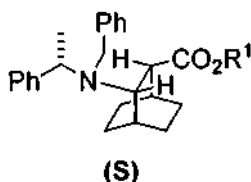
- 25 En una realización específica, la etapa de la hidrogenólisis se realiza en presencia de HCl (por ejemplo, 37,7 % en peso en agua) y genera una sal de HCl del compuesto (F).

Esquema 6:

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (S) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La preparación comprende: hacer reaccionar el compuesto (R):



con *S*-(-)-*N*-bencil-alfa-metilbencilamina de litio para formar el compuesto **(S)**:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Esta reacción puede realizarse en cualquier condición de reacción adecuada conocida en la técnica. En una realización específica, se prepara *S*-(-)-*N*-bencil-alfa-metilbencilamina de litio *in situ* mezclando *S*-(-)-*N*-bencil-alfa-metilbencilamina con un alquililitio, tal como *n*-butillitio.

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto **(R)**. La preparación comprende: (j) hacer reaccionar 1,3-ciclohexadieno con $\text{CH}\equiv\text{CHC}(\text{O})\text{OR}^1$ en presencia de un catalizador de aluminio para formar el compuesto **(Q)**:



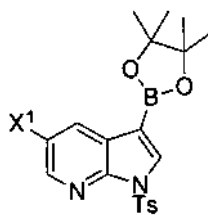
; y (k) hidrogenar el compuesto **(Q)** para formar el compuesto **(R)**:



R^1 es C_{1-4} alquilo. En una realización específica, R^1 es etilo. En otra realización específica, R^1 es metilo.

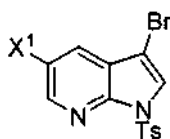
La etapa (j) del anterior párrafo es una reacción de Diels-Alder de 1,3-ciclohexadieno con $\text{CH}\equiv\text{CHC}(\text{O})\text{OR}^1$. Para la etapa (j) puede emplearse cualquier catalizador de aluminio adecuado conocido en la técnica para la reacción de Diels-Alder. Los ejemplos adecuados de los catalizadores de aluminio incluyen EtAlCl_2 (Et = etilo), Et_2AlCl y una mezcla de AlCl_3 y trioctilaluminio. La etapa de hidrogenación (k) del párrafo anterior puede realizarse en cualquier condición adecuada en la técnica para la hidrogenación general. En una realización específica, la etapa (k) comprende hacer reaccionar el compuesto **(R)** con H_2 en presencia de un catalizador de $\text{Rh}(\text{I})$ o $\text{Pd}(0)$ envenenado. Los ejemplos adecuados de catalizadores de $\text{Rh}(\text{I})$ incluyen $(\text{PPh}_3)_3\text{RhCl}$ y una mezcla de $(\text{PPh}_3)_3\text{RhCl}$ y propiolato de etilo, donde Ph es fenilo. Un catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado se refiere a un catalizador de $\text{Pd}(0)$ donde otro compuesto se une químicamente a sus sitios superficiales activos para modular la reactividad del Pd. Los sitios envenenados ya no pueden acelerar la reacción con la cual el catalizador se pretende que catalice. En general, los catalizadores envenenados pueden usarse para mejorar la selectividad de las reacciones. Un ejemplo adecuado del catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado incluye un catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado con plomo sobre CaCO_3 ($\text{Pd}(\text{Pb})/\text{CaCO}_3$).

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto **(Y)**:



(Y):

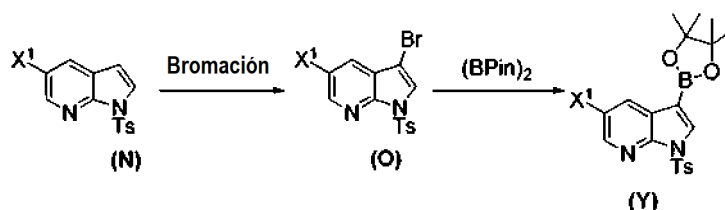
La preparación del compuesto (Y) comprende: hacer reaccionar el compuesto (O):



(O):

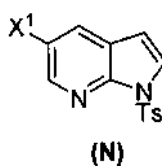
con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Y). Véase, por ejemplo, Esquema 7:

Esquema 7:



Un ejemplo típico de catalizadores de paladio adecuados incluye $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$.

En otra realización, los métodos de la invención emplean hacer reaccionar el compuesto (O) con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio para la preparación del compuesto (Y) y emplear además la preparación del compuesto (O), como se muestra en el esquema 8 anterior. La preparación del compuesto (O) comprende bromar el compuesto (N):

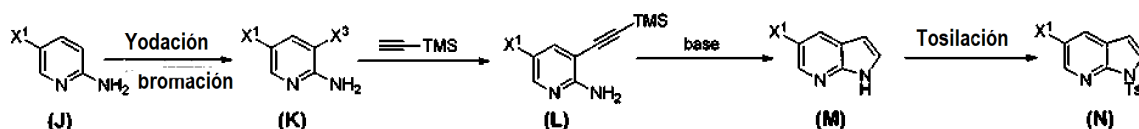


(N)

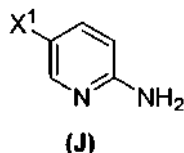
con un agente de bromación. Los ejemplos habituales de bromación incluyen Br_2 , NBS y DBDMH, donde NBS es *N*-bromosuccinimida y DBDMH es 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína. En una realización específica, el agente de bromación incluye Br_2 o NBS. En otra realización específica, el agente de bromación incluye NBS. En otra realización específica más, el agente de bromación incluye Br_2 .

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto (N), tal como se representa en el esquema 8.

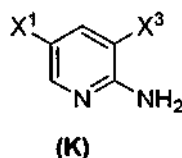
Esquema 8:



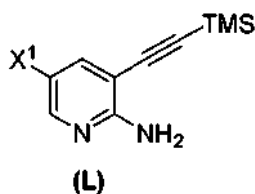
- 5 La preparación del compuesto (N) comprende: (1) hacer reaccionar el compuesto (J):



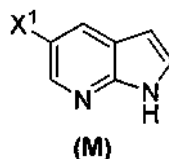
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un agente de yodación o un agente de bromación para formar el compuesto (K):



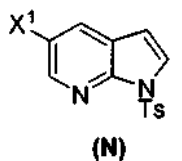
- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (m) hacer reaccionar el compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto (L):



- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (n) hacer reaccionar el compuesto (L) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con una base de alcóxido C_{1-6} para formar el compuesto (M):



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N):



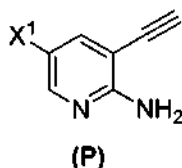
donde X^1 es -F o -Cl; X^3 es -Br o -I; TMS es trimetilsililo y Ts es tosilo.

La yodación o bromación en el Esquema 8 puede realizarse usando condiciones adecuadas y reactivos conocidos en la técnica. Los ejemplos habituales de bromación incluyen Br_2 , NBS y DBDMH, donde NBS es *N*-

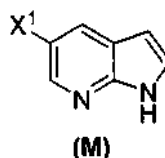
bromosuccinimida y DBDMH es 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína. Los ejemplos habituales de agentes de yodación incluyen I_2 , ICl, y NIS, don de NIS es *N*-yodosuccinimida. En una realización específica, se emplea la bromación. En otra realización específica, se emplea la bromación mediante el uso de Br_2 . En otra realización específica más, se emplea la bromación mediante el uso de NBS. En otra realización específica más, se emplea la yodación. En otra

La reacción del compuesto (**K**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsililacetileno puede realizarse en cualquier condición adecuada conocida en la técnica por acoplamiento de Sonogashira entre arilhaluros y trimetilsililacetileno. Normalmente, se realiza en presencia de un catalizador de paladio y/o un catalizador de haluro de cobre (I). Un ejemplo habitual de haluro de cobre (I) incluye CuI. Los ejemplos habituales de paladio incluyen $Pd(Ph_3P)_4$ (Ph = fenilo), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, $Pd(dppf)_2Cl_2$ (dppf= 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno), $Pd(acac)_2$ (acac = acetilacetato), $PdCl_2(PCy_3)_2$ (Cy = ciclohexilo), $Pd_2(dba)_3$ (dba = dibencilidenoacetona) y cualquier combinación de los mismos. En una realización específica, se realiza en presencia de un catalizador de paladio y/o un catalizador de haluro de cobre (I). En otra realización específica, se realiza en presencia de una base de amina (por ejemplo, C_{1-4} alquilamina, tal como trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, N,N-dietilmetilamina) y un catalizador de paladio y/o un catalizador de haluro de cobre (I). En otra realización específica, se realiza en presencia de CuI y un catalizador de Pd seleccionado entre $Pd(Ph_3P)_4$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, $Pd(dppf)_2Cl_2$ o cualquiera de sus combinaciones. En otra realización específica, se realiza en presencia de una alquilamina C_{1-4} (por ejemplo, trietilamina) y CuI y un catalizador de Pd seleccionado entre $Pd(Ph_3P)_4$, $Pd(PPh_3)_2Cl_2$, $Pd(dppf)_2Cl_2$ o cualquiera de sus combinaciones.

La etapa (n) de la reacción del compuesto (**L**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con una base de alcóxido C_{1-6} también puede hacerse usando condiciones adecuadas y reactivos conocidos en la técnica. Los ejemplos habituales de alcóxidos C_{1-6} son como se han descrito anteriormente. Algunos ejemplos específicos incluyen un *terc*-amilato, un *terc*-butóxido y un metóxido, (tal como *terc*-amilato de potasio, *terc*-butóxido de potasio y metóxido sódico) y cualquiera de sus combinaciones. En una realización específica, se emplea *terc*-butóxido de potasio. En otra realización específica, la etapa (n) comprende hacer reaccionar el compuesto (**L**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con metóxido sódico para formar el compuesto (**P**):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se hace reaccionar posteriormente con *terc*-butóxido de potasio y/o *terc*-amilato de potasio para formar el compuesto (**M**):

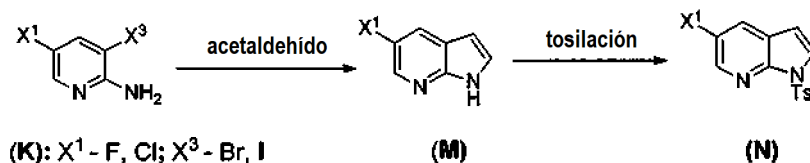


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

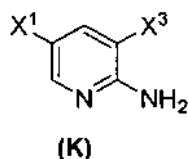
La etapa de tosilación (p) puede realizarse en cualquier condición adecuada conocida en la técnica para la tosilación. En una realización específica, la etapa de tosilación se realiza haciendo reaccionar el compuesto (**M**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con TsCl.

En otra realización, la invención emplea la preparación del compuesto (**N**), tal como se representa en el esquema 9.

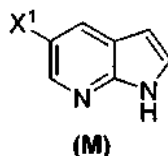
Esquema 9:



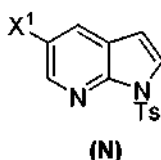
La preparación comprende: (q) hacer reaccionar el compuesto (**K**):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(M)**:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X³ es -Br o -I; y (p) tosilar el compuesto **(M)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(N)**:



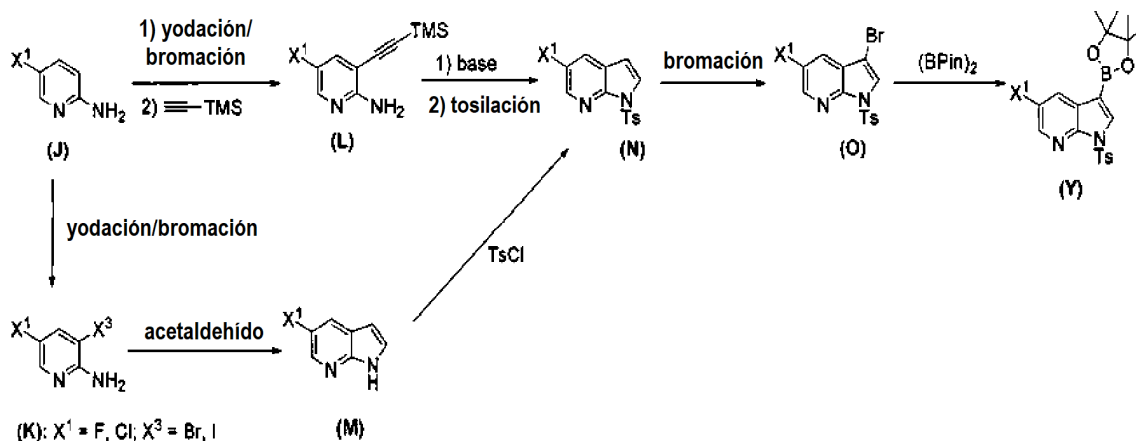
Los ejemplos habituales de los catalizadores de paladio para la reacción del compuesto **(K)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído incluyen mezclas de bis(dibencilidenoacetona) paladio y un ligando de fosfina terciaria, PR₃, donde R es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₅₋₆. Los ejemplos habituales de ligandos de fosfina terciaria, PR₃, incluyen P(^tBu)₃, PCy₃, P(*i*-Pr)₃, P(Bu)₃, PEt₃, PMe₃ o una mezcla de los mismos. En una realización específica, se emplea P(^tBu)₃.

En una realización específica, la preparación del compuesto **(N)**, tal como se representa en el esquema 10 comprende además tratar la mezcla de reacción del compuesto **(K)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído con una base de carbonato, tal como Na₂CO₃ antes de la etapa de tosilación para formar el compuesto **(N)**.

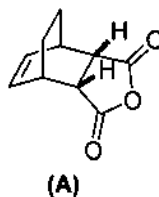
La etapa de tosilación (p) puede realizarse en cualquier condición adecuada conocida en la técnica para la tosilación. En una realización específica, la etapa de tosilación se realiza haciendo reaccionar el compuesto **(M)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con TsCl.

En otra realización, los métodos de la invención emplean la preparación del compuesto **(Y)** tal como se representa en el esquema 10. Los ejemplos y las condiciones para cada etapa del esquema 11 son independientemente como se ha descrito anteriormente.

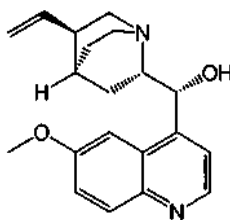
Esquema 10:



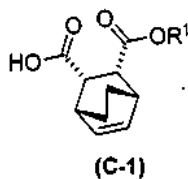
En otra realización, los métodos de la invención son para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde los métodos comprenden: (g) hacer reaccionar el compuesto (A):



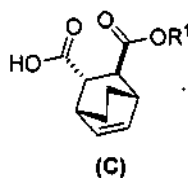
5 con quinina:



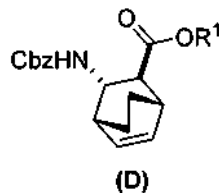
10 y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1):



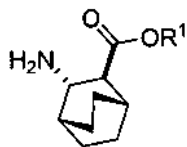
15 ; (h) romper el aducto de la quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (i) epimerizar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al compuesto (C):



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (e) hacer reaccionar el compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida (DPPA) y con alcohol bencílico para formar el compuesto (D):



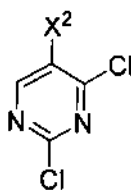
25 , donde Cbz es carboxilbencilo; (f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar el compuesto (F)



(F)

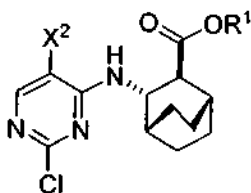
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (c) hacer reaccionar el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (G):

5



(G)

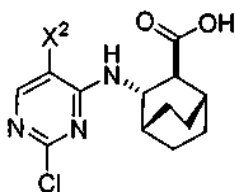
para formar el compuesto (H):



(H)

10

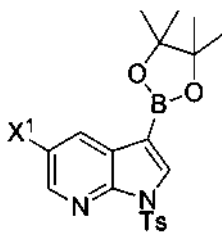
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (d) hidrolizar el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (X);



(X)

15

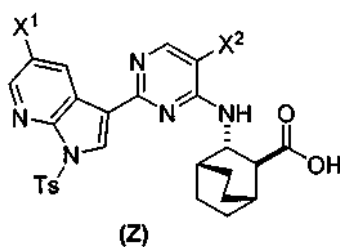
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (a) hacer reaccionar el compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y):



(Y)

20

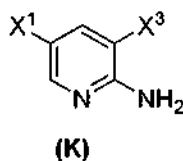
en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Z):



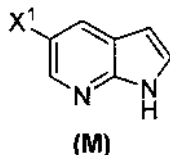
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (b) desproteger el grupo Ts del compuesto **(Z)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(1)** o una sal farmacéuticamente aceptable. Cada uno de X^1 y X^2 es independientemente -F o -Cl y R^1 es etilo. Las condiciones y reactivos adecuados, incluyendo los específicos, para cada etapa son como se han descrito anteriormente para los esquemas 1-10. En una realización específica, la etapa h) de la reacción del compuesto **(X)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto **(Y)** se realiza en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o carbonato. Algunos ejemplos específicos de las bases de fosfato y carbonato son como se han descrito anteriormente. En otra realización específica, la etapa (h) de la reacción del compuesto **(X)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto **(Y)** se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y un disolvente orgánico seleccionado entre 2-metil THF o THF o una combinación de los mismos. En otra realización específica más, la etapa de desprotección (i) comprende tratar el compuesto **(Z)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en LiOH, NaOH y KOH. En otra realización específica más, la etapa de desprotección (i) comprende tratar el compuesto **(Z)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con LiOH en un sistema disolvente que incluye THF. En otra realización específica más, la etapa (d) de hidrogenación del compuesto **(D)** comprende hacer reaccionar el compuesto **(D)** con H_2 en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd/C). En otra realización más, la epimerización del compuesto **(C-1)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se hace tratando el compuesto con un alcóxido C_{1-6} . Los ejemplos específicos de alcóxido C_{1-6} son como se han descrito anteriormente.

En otra realización específica más, los métodos de la invención son para preparar el compuesto **(2)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde los métodos comprenden las etapas (a) hasta (i) del párrafo anterior, donde cada uno de X^1 y X^2 es independientemente -F y R^1 es etilo. Las condiciones de reacción adecuadas para cada una de sus etapas y ejemplos específicos son como se han descrito anteriormente para la preparación del compuesto **(1)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

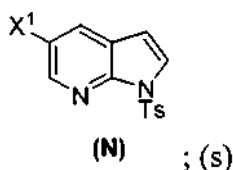
En otra realización, los métodos de la invención son para la preparar el compuesto **(1)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El método comprende: (q) hacer reaccionar el compuesto **(K)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



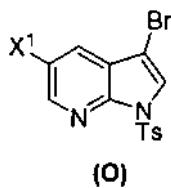
con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(M)**:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (p) tosilar el compuesto **(M)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(N)**:

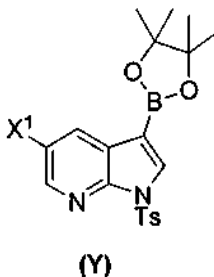


bromar el compuesto **(N)** para formar el compuesto **(O)**:



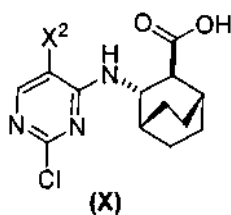
5

(t) hacer reaccionar el compuesto **(O)** con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(Y)**:



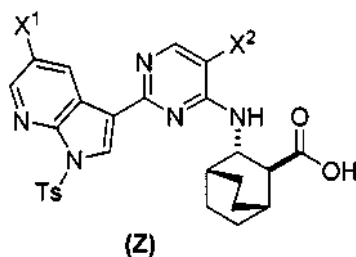
10

(a) hacer reaccionar el compuesto **(X)**:



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto **(Y)** en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(Z)**:



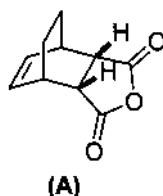
20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (b) desproteger el grupo Ts del compuesto **(Z)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cada uno de X¹ y X² es independientemente -F o -Cl y X³ es -Br. Las condiciones y reactivos adecuados, incluyendo los específicos, para cada etapa son como se han descrito anteriormente para los esquemas 1-11. En

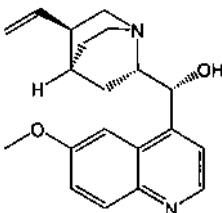
una realización específica, la etapa (e) de la reacción del compuesto (X) con el compuesto (Y) se realiza en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o carbonato. Algunos ejemplos específicos de las bases de fosfato y carbonato son como se han descrito anteriormente. En otra realización específica, la etapa (e) de la reacción del compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y) se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y un disolvente orgánico seleccionado entre 2-metil THF o THF o una combinación de los mismos. En otra realización específica más, la etapa de desprotección (f) comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico seleccionado entre el grupo que consiste en LiOH, NaOH y KOH. En otra realización específica más, la etapa de desprotección (f) comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con LiOH en un sistema disolvente que incluye THF. En otra realización específica más, el catalizador de paladio de la etapa (a) de la reacción del compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído incluye una mezcla de bis(dibencilidenoacetona) paladio y un ligando de fosfina terciaria, PR_3 , donde R es alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{5-6} . En otra realización específica más, el ligando de fosfina terciaria incluye $P(tBu)_3$.

En otra realización específica más, los métodos de la invención son para preparar el compuesto (2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde los métodos comprenden las etapas (a) hasta (f) del párrafo anterior, donde cada uno de X^1 y X^2 es independientemente -F. Las condiciones de reacción adecuadas para cada una de sus etapas y ejemplos específicos son como se han descrito anteriormente para la preparación del compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

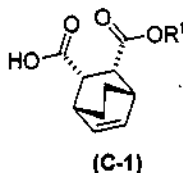
En otra realización, los métodos de la invención son para la preparar el compuesto (2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El método comprende: (g) hacer reaccionar el compuesto (A):



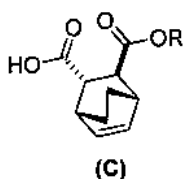
con quinina:



y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1):

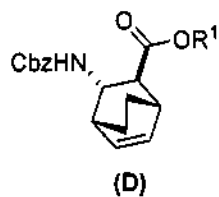


(h) romper el aducto de la quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (i) epimerizar el compuesto (C-1) al compuesto (C):

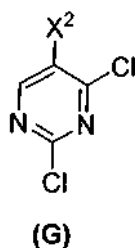


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; (e) hacer reaccionar el compuesto (C) con difenilfosforil azida y

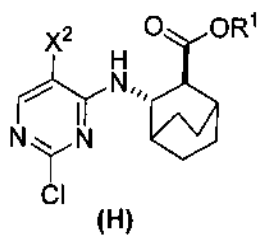
después con alcohol bencílico para formar el compuesto (D):



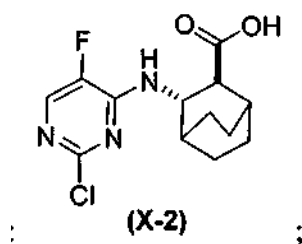
- 5 (f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar una sal de HCl del compuesto (F); (r) hacer reaccionar la sal de HCl del compuesto (F) con el compuesto (G):



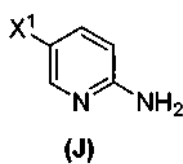
- 10 para formar el compuesto (H):



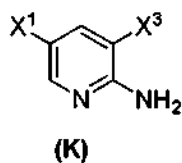
- 15 (h-1) hidrolizar el compuesto (H) para formar el compuesto (X-2):



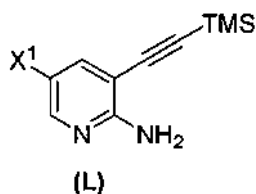
- 20 (l) yodar o bromar el compuesto (J):



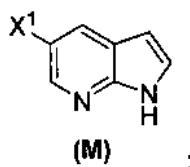
para formar el compuesto (K):



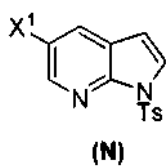
(q-1) hacer reaccionar el compuesto **(K)** con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto **(L)**:



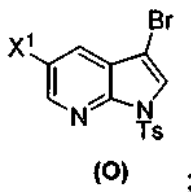
(j) hacer reaccionar el compuesto **(L)** con un alcóxido C₁₋₆ para formar el compuesto **(M)**:



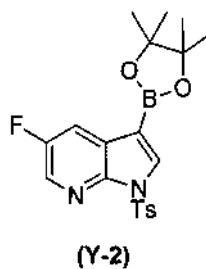
(k) tosilar el compuesto **(M)** para formar el compuesto **(N)**:



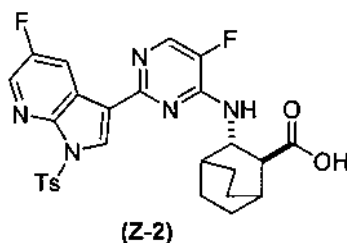
(s) bromar el compuesto **(N)** para formar el compuesto **(O)**:



(t) hacer reaccionar el compuesto **(O)** con bis(pinacolato)diboro en presencia de Pd(Ph₃P)₄ para formar el compuesto **(Y-2)**:

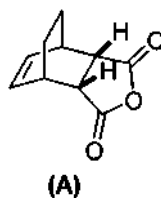


(n) hacer reaccionar el compuesto **(X-2)** con el compuesto **(Y-2)** en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o carbonato seleccionada entre K₂CO₃ o K₃PO₄ para formar el compuesto **(Z-2)**:

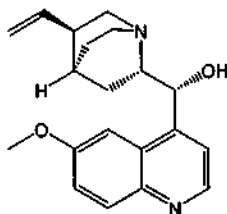


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y (o) desproteger el grupo Ts del compuesto **(Z-2)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(2)** una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cada R^1 es independientemente etilo; cada X^1 es independientemente -F; cada X^2 es independientemente -F y cada X^3 es independientemente -Br o -I. Las condiciones y reactivos adecuados, incluyendo los específicos, para cada etapa son como se han descrito anteriormente para los esquemas 1-11.

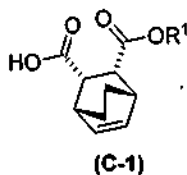
En otra realización más, la invención se refiere a métodos de preparación del compuesto **(C)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El método comprende: (g) hacer reaccionar el compuesto **(A)**:



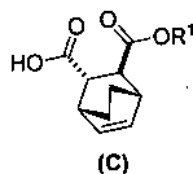
con quinina:



y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto **(C-1)**:

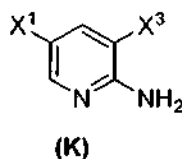


(h) romper el aducto de la quinina y el compuesto **(C-1)** tratando el aducto con HCl para formar el compuesto **(C-1)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; e (i) epimerizar el compuesto **(C-1)** al compuesto **(C)**:

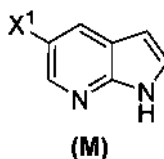


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, el aducto de quinina y el compuesto **(C)** que tiene etilo para R^1 precipita de la mezcla de reacción de quinina y el compuesto **(A)**, el cual puede proporcionar el compuesto **(C)** en una forma enantioméricamente pura al 99 %.

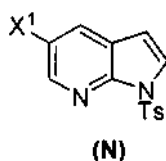
En otra realización más, la invención se refiere a métodos para preparar el compuesto **(N)**. El método comprende: (q) hacer reaccionar el compuesto **(K)**:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto **(M)**:



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X¹ es -F o -Cl y X³ es -Br o -I; y (p) tosilar el compuesto **(M)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto **(N)**:



15 En una realización específica, X¹ es -F. En otra realización específica, X³ es -Br. En otra realización específica más, X¹ es -F y X³ es -Br. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, la preparación del compuesto **(N)** de acuerdo con el esquema 9 tiene varias ventajas sobre la del esquema 8 (compuestos **(K)**→compuesto **(N)**) en la que la preparación del compuesto **(N)** de acuerdo con el esquema 9 habitualmente proporciona mejores rendimientos y menos filtraciones en general. También es rentable para una producción a gran escala, tal como una reacción a escala comercial debido a un coste relativamente inferior de acetaldehído que el de trimetilsilil acetileno.

En otra realización más, los métodos de la invención emplean además el tratamiento del compuesto (1), tras la etapa de desprotección (b) del esquema 1 anterior, con HCl para formar una sal de HCl del compuesto (1). En una realización específica, el tratamiento con HCl se realiza en un sistema disolvente que incluye agua y uno o más disolventes orgánicos para formar una sal de HCl del compuesto (1), donde los disolventes orgánicos se seleccionan independientemente entre los disolventes orgánicos de clase II seleccionados entre el grupo que consiste en: clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 1,4-dioxano, 2-etoxietanol, formamida, hexano, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, nitrometano, piridina, sulfolano, tetrahidrofurano (THF), tetralina, tolueno, 1,1,2-tricloroetano y xileno o disolventes orgánicos de clase III seleccionados entre el grupo que consiste en: ácido acético, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, éter de *tert*-butilmetilo, cumeno, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, metil isobutil cetona, 2-metil-1-propanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol y acetato de propilo. En otra realización específica, los disolventes orgánicos del sistema disolvente se seleccionan entre el grupo que consiste en: clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, formamida, hexano, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, nitrometano, tetralina, xileno, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, t-butilmetiléter, cumeno, etanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, 2-metil-1-propanol, pentano, 1-propanol, 1-pentanol, 2-propanol, acetato de propilo, tetrahidrofurano y tetrahidrofurano de metilo. En otra realización específica, los disolventes orgánicos del sistema disolvente se seleccionan entre el grupo que consiste en: 2-etoxietanol, etilenglicol, metanol, 2-metoxietanol, 1-butanol, 2-butanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, etanol, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, metil butil cetona, acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetato de butilo, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, piridina, tolueno y xileno. En otra realización específica más, el sistema disolvente incluye agua y acetona o agua e isopropanol.

En otra realización más, los métodos de la invención emplean además el tratamiento del compuesto (2), después de la etapa de desprotección (b) del esquema 1-A anterior, con HCl para formar una sal de HCl del compuesto (2). Los sistemas de disolvente adecuados, incluyendo los ejemplos específicos, son como se han descrito anteriormente

para el compuesto (1).

Las condiciones a modo de ejemplo específicas adecuadas para cada etapa de los esquemas 1-11, cada una de las cuales puede emplearse independientemente en los métodos de la invención, se describen a continuación en la sección de Ejemplos.

Los métodos de la invención descritos anteriormente pueden usarse para preparar formas sólidas específicas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, el compuesto (1) puede existir en o formar diferentes formas polimórficas. Como se conoce en la técnica, el polimorfismo es una capacidad de un compuesto para cristalizar en forma de más de especie "polimórfica" o cristalina distinta. Un polimorfo es una fase cristalina sólida de un compuesto con al menos dos disposiciones o formas polimórficas diferentes de esa molécula de compuesto en estado sólido. Las formas polimórficas de cualquier compuesto se definen mediante la misma fórmula química o composición y son tan distintas en estructura química como las estructuras químicas de dos compuestos químicos diferentes. En general, los diferentes polimorfos pueden caracterizarse mediante métodos analíticos tales como patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD), análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) o mediante su punto de fusión u otras técnicas conocidas en la técnica. Tal como se usa en el presente documento, el término "forma polimórfica" incluye solvatos y forma polimórfica pura que no tiene ningún solvato. Se observa que el compuesto (1) y las sales del compuesto (1) pueden ser solvatadas o no solvatadas a menos que se especifique de otro modo. Asimismo, se observa que el compuesto (1) y las sales del compuesto (1) pueden ser cristalinas o amorfas a menos que se especifique de otro modo.

Un ejemplo de formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables es la forma polimórfica A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O. Esta forma es una forma polimórfica de la sal de HCl del compuesto (1) que incluye agua como solvato en medio equivalente por compuesto (1). En una realización específica, La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O se caracteriza porque tiene una XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) a 10,5± 0,2, 5,2± 0,2, 7,4± 0,2 y 12,8± 0,2. En otra realización específica, La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medido en 2-theta (grados) en las siguientes posiciones enumeradas en la tabla 3A de los ejemplos. Los patrones de XRPD se obtienen a temperatura ambiente usando radiación K alfa de Cu. En otra realización específica más, la forma polimórfica A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O se caracteriza porque tiene picos a 29,2, 107,0, 114,0 y 150,7 (± 0,3 ppm) en un espectro de RMN de estado sólido C¹³. En otra realización específica más, La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O se caracteriza porque tiene picos de RMN de estado sólido C¹³ enumerados en la tabla 3B de los ejemplos.

Otro ejemplo de formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables es la forma polimórfica F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O. Esta forma es una forma polimórfica de la sal de HCl del compuesto (1) que incluye agua como solvato en tres equivalentes por compuesto (1). En una realización específica, La forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) a 7,1± 0,2, 11,9± 0,2 y 12,4± 0,2. En otra realización específica, La forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) en las siguientes posiciones enumeradas en la tabla 5 de los ejemplos. Los patrones de XRPD se obtienen a temperatura ambiente usando radiación K alfa de Cu. En otra realización específica más, la forma polimórfica F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O se caracteriza porque tiene picos a 20,7, 27,4, 104,8, 142,5, 178,6 (± 0,3 ppm) en un espectro de RMN de estado sólido C¹³. En otra realización específica más, La forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O se caracteriza porque tiene picos de RMN de estado sólido C¹³ enumerados en la tabla 6 de los ejemplos.

Otro ejemplo de las formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables es la forma polimórfica D de la sal de HCl del compuesto (1). Esta forma es una forma no solvatada de la sal de HCl del compuesto (1). En una realización específica, La forma D de la sal de HCl del compuesto (1) se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) a 5,8± 0,2, 17,1± 0,2 y 19,5± 0,2. En otra realización específica, La forma de de la sal de HCl del compuesto (1) se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) en las posiciones enumeradas en la tabla 7 de los ejemplos. Los patrones de XRPD se obtienen a temperatura ambiente usando radiación K alfa de Cu. En otra realización específica más, La forma D de la sal de HCl del compuesto (1) se caracteriza porque tiene picos a 29,4, 53,4, 113,3, 135,4, 177,8 (± 0,3 ppm) en un espectro de RMN de estado sólido C¹³. En otra realización específica más, La forma D de la sal de HCl del compuesto (1) se caracteriza porque tiene picos de RMN de estado sólido C¹³ enumerados en la tabla 8 de los ejemplos.

Otro ejemplo de formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables es la forma polimórfica A del compuesto (1). Esta forma es una forma de base libre, no solvatada, del compuesto (1). En una realización específica, la forma A del compuesto (1) se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) a 15,5± 0,2, 18,9± 0,2 y 22,0± 0,2. En otra realización específica, la forma A del compuesto (1) se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) en las posiciones enumeradas en la tabla 10 de los ejemplos. Los patrones de XRPD se obtienen a temperatura ambiente usando radiación K alfa de Cu. En otra realización específica más, la forma A del compuesto (1) se

caracteriza porque tiene picos a 21,0, 28,5, 50,4, 120,8, 138,5 y 176,2 ($\pm 0,3$ ppm) en un espectro de RNM de estado sólido C^{13} . En otra realización específica más, la forma A del compuesto (1) se caracteriza porque tiene picos de RMN de estado sólido C^{13} enumerados en la tabla 11 de los ejemplos.

Otro ejemplo de formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables es la forma polimórfica A de la sal de tosilato del compuesto (1). Esta forma es una forma no solvatada de la sal de tosilato del compuesto (1). En una realización específica, la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1) se caracteriza porque tiene un patrón de XRPD con picos característicos medidos en 2-theta (grados) en las posiciones enumeradas en la tabla 14 de los ejemplos. Los patrones de XRPD se obtienen a temperatura ambiente usando radiación K alfa de Cu.

Otro ejemplo de formas sólidas del compuesto (1) o sus sales farmacéuticamente aceptables son los solvatos de 2-MeTHF del compuesto (1). En una realización específica, los solvatos incluyen 0,5 - 1,5 equivalentes de 2-MeTHF por compuesto (1), tal como 1 equivalente de 2-MeTHF por compuesto (1). En otra realización específica, los solvatos incluyen 1 equivalente de 2-MeTHF y se caracterizan porque tienen determinados picos de XRPD enumerados en la tabla 12 de los ejemplos.

La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O puede prepararse empleando el mezclado (por ejemplo, agitación) de cloruro de hidrógeno (HCl) con el compuesto (1). El compuesto (1) puede ser solvatado, no solvatado, amorfo o cristalino. Una solución, compuesto acuoso o suspensión del compuesto (1) puede mezclarse con HCl en un sistema disolvente que incluye agua y uno o más disolventes orgánicos, donde el sistema disolvente tiene una actividad de agua igual a, o mayor de 0,05 e igual a o menor de 0,85, es decir, 0,05 - 0,85. El término "actividad de agua" (a_w) se usa en el presente documento como se conoce en la técnica y significa una medida del estado de energía del agua en un sistema disolvente. Se define como la presión del vapor de un líquido dividido por la del agua pura a la misma temperatura. Específicamente, se define como $a_w = \frac{p}{p_0}$, donde p es la presión del vapor de agua en la sustancia y p_0 es la presión del vapor de agua pura a la misma temperatura o como $a_w = I_w \times x_w$, donde I_w es el cociente de actividad del agua y x_w es la fracción molar del agua en la fracción acuosa. Por ejemplo, el agua pura tiene un valor de actividad de agua de 1,0. Los valores de actividad de agua normalmente pueden obtenerse tanto por un higrómetro de capacitancia como por un hidrómetro de punto de rocío. También están disponibles en el mercado diversos tipos de instrumentos de medida de la actividad de agua. Como alternativa, los valores de actividad de agua de mezclas de dos o más disolventes pueden calcularse basado en las cantidades de los disolventes y los valores de actividad de agua conocidos de los disolventes.

Un ejemplo del compuesto (1) cristalino incluye la forma A del compuesto (1). Los ejemplos de solvatos del compuesto (1) incluyen solvatos de 2-MeTHF, N,N-metanol, xileno, acetona, 2-butanol, acetato de metilo, 1-pentanol, 2-propanol, tetrahidrofurano, metil tetrahidrofurano, dimetilacetamida N,N-dimetilformamida 1,4-dioxano, 1-pentanol, 2-metil-1-propanol, metil etil cetona, 3-metil-1-butanol, heptano, formiato de etilo, 1-butanol, ácido acético y etilenglicol. En una realización específica, se emplean solvatos de 2-MeTHF (por ejemplo, compuesto (1)·1(2-MeTHF)).

Los sistemas disolventes adecuados para la preparación de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O pueden comprender una gran variedad de combinaciones de agua y disolventes orgánicos donde la actividad de agua de los sistemas disolventes es igual a o mayor de 0,05 e igual a o menor de 0,85 (0,05-0,85). En una realización específica, el valor de la actividad de agua es 0,4 - 0,6. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen disolventes orgánicos de clase II o clase III enumerados en la International Conference on Harmonization Guidelines. Los ejemplos específicos de disolventes orgánicos de clase II incluyen clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 1,4-dioxano, 2-etoxietanol, formamida, hexano, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, nitrometano, piridina, sulfolano, tetrahidrofurano (THF), tetralina, tolueno, 1,1,2-tricloroetano y xileno. Los ejemplos específicos de disolventes orgánicos adecuados de clase III incluyen: ácido acético, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, éter de *tert*-butilmetilo, cumeno, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, metil isobutil cetona, 2-metil-1-propanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol y acetato de propilo. En una realización específica, los disolventes orgánicos del sistema disolvente se seleccionan entre el grupo que consiste en clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, hexano, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, nitrometano, tetralina, xileno, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, *t*-butilmetiléter, cumeno, etanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, 2-metil-1-propanol, pentano, 1-propanol, 1-pentanol, 2-propanol, acetato de propilo, tetrahidrofurano y tetrahidrofurano de metilo. En otra realización específica, los disolventes orgánicos del sistema disolvente se seleccionan entre el grupo que consiste en 2-etoxietanol, etilenglicol, metanol, 2-metoxietanol, 1-butanol, 2-butanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, etanol, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, metil butil cetona, acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, acetato de butilo, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, piridina, tolueno y xileno. En otra realización más, los disolventes orgánicos se seleccionan entre el grupo que consiste en acetona, *n*-propanol, isopropanol, iso-butilacetato y ácido acético. En otra realización más, los disolventes orgánicos se seleccionan entre el grupo que consiste en acetona e isopropanol. En otra realización específica más, el sistema disolvente incluye

agua y acetona. En otra realización específica más, el sistema disolvente incluye agua e isopropanol.

La preparación de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O puede realizarse a cualquier temperatura adecuada. Normalmente, se realiza a una temperatura de 5 °C - 75 °C. En una realización específica, se realiza a una temperatura de 15 °C - 75 °C. En otra realización específica, se realiza a una temperatura de 15 °C - 60 °C. En otra realización específica más, se realiza a una temperatura de 15 °C - 35 °C. En otra realización específica más, la preparación se realiza a 5 °C - 75 °C en un sistema disolvente que tiene un valor de actividad de agua de 0,4-0,6. En otra realización específica más, la preparación se realiza a una temperatura de 15 °C - 75 °C en un sistema disolvente que tiene un valor de actividad de agua de 0,4-0,6. En otra realización específica más, la preparación se realiza a una temperatura de 15 °C - 60 °C en un sistema disolvente que tiene un valor de actividad de agua de 0,4-0,6. En otra realización específica más, la preparación se realiza a 15 °C -35 °C en un sistema disolvente que tiene un valor de actividad de agua de 0,4-0,6.

Puede introducirse cloruro de hidrógeno en forma de una solución o de gas. Un ejemplo de fuente de cloruro de hidrógeno adecuada es una solución de cloruro de hidrógeno del 30-40 por ciento en peso (por ejemplo, 34 % en peso -38 % en peso) en agua.

La forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O puede prepararse mezclando HCl y el compuesto (1) en un sistema disolvente que incluye agua o que incluye agua y uno o más disolventes orgánicos, donde el sistema disolvente tiene una actividad de agua igual a o mayor de 0,9 ($\geq 0,9$). La mezcla puede ser una solución, una composición acuosa o una suspensión. El compuesto (1) puede ser solvatado, no solvatado, amorfo o cristalino. Como alternativa, puede prepararse por agitación de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O en un sistema disolvente que incluye agua o que incluye agua y uno o más disolventes orgánicos, donde el sistema disolvente tiene una actividad de agua igual a o mayor de 0,9. Normalmente, el agua pura tiene un valor de actividad de agua de 1,0. Por consiguiente, un sistema disolvente que tiene una actividad de agua de 0,9-1,0 puede ser adecuado para la preparación de la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O. En una realización específica, el mezclado o agitación se realiza a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C). En otra realización específica, el mezclado o agitación se realiza a una temperatura de 15 °C - 30 °C. En otra realización específica, el mezclado o agitación se realiza a una temperatura de 20 °C - 28 °C (por ejemplo, 25 °C). Los disolventes orgánicos adecuados, incluyendo los ejemplos específicos, para la formación de la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O son como se han descrito anteriormente para la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O. En otra realización específica más, el sistema disolvente incluye agua y acetona. En otra realización específica más, el sistema disolvente incluye agua e isopropanol.

La forma D de la sal de HCl del compuesto (1) puede prepararse deshidratando la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O. La deshidratación puede realizarse por cualquier medio adecuado, tal como calentamiento o purgado con nitrógeno seco o ambos.

La forma A del compuesto (1) puede prepararse mediante (a) agitar una mezcla del compuesto amorfo (1) o un solvato del compuesto (1) (tal como un solvato 2-MeTHF del compuesto (1)) en un sistema disolvente que incluye agua y etanol. La mezcla puede ser una solución o una suspensión. En una realización específica, la etapa de agitación se realiza a una temperatura en un intervalo de 18 °C a 90 °C. En otra realización específica, la etapa de agitación (a) se realiza a temperatura de reflujo del sistema disolvente. En otra realización específica, el sistema disolvente incluye agua al 5-15 % en peso. Los ejemplos de solvatos del compuesto (1) son como se han descrito anteriormente. En una realización específica, se emplean los solvatos de 2-MeTHF (por ejemplo, compuesto (1) 1(2-MeTHF)).

En otra realización, los métodos de preparación de la forma A del compuesto (1) comprenden además: (b) agitar la forma amorfa del compuesto (1) en nitrometano para formar la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1); y (c) añadir la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1) a la mezcla resultante de la etapa de mezclado (a). En una realización específica, los métodos también comprenden: (b) agitar la forma amorfa del compuesto (1) en nitrometano para formar la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1); (c) enfriar la mezcla resultante de la etapa de mezclado (a) a una temperatura en el intervalo de 18 °C a 60 °C (por ejemplo, 50-55 °C o 55 °C); y (d) añadir la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1) a la mezcla resultante etapa (c). En otra realización específica, los métodos también comprenden añadir agua, antes de la adición de la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1), a la mezcla resultante que ha pasado a través de la etapa de reflujo, en una cantidad para tener el sistema disolvente resultante, incluido el agua, en un 15-25 % en peso después de la adición del agua. En otra realización específica más, los métodos también comprenden añadir agua a la mezcla que incluye la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1) en una cantidad para tener el sistema disolvente resultante, incluido el agua, en un 35-45 % en peso después de la adición del agua. En otra realización específica más, los métodos también comprenden enfriar la mezcla que incluye la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1), tras la adición del agua, a una temperatura de 0 °C - 10 °C.

En una realización específica, la semilla cristalina de la forma A del compuesto (1) puede prepararse por el solvato 2-MeTHF del compuesto (1) en nitrometano. En una realización, el sistema disolvente para la etapa de reflujo incluye agua al 5-15 % en peso, tal como el 10 % en peso.

La forma A de la sal de tosilato del compuesto (1) puede prepararse agitando una mezcla del compuesto amorfo (1) o un solvato del compuesto (1) ((tal como un solvato 2-MeTHF del compuesto (1)), ácido *p*-toluenosulfónico y un sistema disolvente que incluye acetonitrilo. En una realización específica, la etapa de mezclado o agitación se realiza a temperatura ambiente. En otra realización específica, la etapa de mezclado o agitación se realiza a una

temperatura de 15 °C -30 °C. En otra etapa específica, la etapa de mezclado o agitación se realiza a una temperatura de 20 °C - 30 °C (por ejemplo, 25 °C). Los ejemplos adecuados de solvatos del compuesto (1), incluyendo los ejemplos específicos, son como se han descrito anteriormente para la preparación de la forma A del compuesto (1).

En otra realización más, la invención incluye formas amorfas del compuesto (1) y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como sal de HCl del compuesto amorfo (1) y el compuesto amorfo (1). En otra realización más, la invención también incluye la forma B del compuesto (1) hidrato. La forma B del compuesto (1) hidrato es isomórfico con la forma A del compuesto (1), mostrando los mismos picos de XRPD que los de la forma A del compuesto (1), pero formado en presencia de agua, por ejemplo, en un sistema que tiene una actividad de agua mayor de 0,6, tal como 0,6-1,0, a temperatura ambiente.

La presente invención abarca las formas polimórficas del compuesto (1) descrito anteriormente, en forma pura, aislada o en una mezcla en forma de una composición sólida cuando se mezcla con otros materiales, por ejemplo las otras formas (es decir forma amorfa, forma A del compuesto (1), etc.) del compuesto (1) o cualquier otro material.

En un aspecto, la presente invención proporciona formas polimórficas, tales como la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O, la forma D de la sal de HCl del compuesto (1), la forma A del compuesto (1), la forma B del compuesto (1) hidrato y la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1), en forma de sólido aislado. En otro aspecto más, la presente invención proporciona la forma amorfa del compuesto (1) y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como la sal de HCl del compuesto amorfo (1) y el compuesto amorfo (1), en forma de sólido aislado.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona formas polimórficas, tales como la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3H₂O, la forma D de la sal de HCl del compuesto (1), la forma A del compuesto (1), la forma B del compuesto (1) hidrato y la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1), en forma pura. La forma pura significa que la forma polimórfica particular comprende más del 95 % (p/p), por ejemplo, más del 98 % (p/p), más del 99 % (p/p %), más del 99,5 % (p/p) o más del 99,9 % (p/p). En otro aspecto más, se proporcionan formas amorfas del compuesto (1) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo en forma pura. La forma pura significa que la forma amorfa es más del 95 % (p/p), por ejemplo, más del 98 % (p/p), más del 99 % (p/p %), más del 99,5 % (p/p) o más del 99,9 % (p/p).

Más específicamente, la presente invención proporciona cada una de las formas polimórficas en forma de una composición o una mezcla de la forma polimórfica con una o más formas cristalina, solvato, amorfa u otras formas polimórficas o sus combinaciones. Por ejemplo, en una realización, la composición comprende la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O junto con una o más formas polimórficas distintas del compuesto (1), tal como forma amorfa, solvatos, la forma D de la sal de HCl del compuesto (1), la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O, la forma A del compuesto (1) y/o otras formas o sus combinaciones. De manera similar, en otra realización, la composición comprende la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O junto con una o más formas polimórficas distintas del compuesto (1), tal como la forma amorfa, solvatos, la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, la forma D de la sal de HCl del compuesto (1), la forma A del compuesto (1) y/o otras formas o sus combinaciones. De manera similar, en otra realización, la composición comprende la forma D de la sal de HCl del compuesto (1) junto con una o más formas polimórficas distintas del compuesto (1), tal como forma amorfa, solvatos, la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O, la forma A del compuesto (1) y/o otras formas o sus combinaciones. En otra realización más, la composición comprende la forma A del compuesto (1) junto con una o más formas polimórficas distintas del compuesto (1), tal como forma amorfa, hidratos, solvatos y/u otras formas o sus combinaciones. En otra realización más, la composición comprende la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1) junto con una o más formas polimórficas distintas del compuesto (1), tal como forma amorfa, hidratos, solvatos y/u otras formas o sus combinaciones. Más específicamente, la composición puede comprender cantidades desde trazas hasta el 100 % de la forma polimórfica específica o cualquier cantidad entre ambas, por ejemplo, 0,1 % - 0,5 %, 0,1 %, -1 %, 0,1 % - 2 %, 0,1 % - 5 %, 0,1 %, -10 %, 0,1 % - 20 %, 0,1 % - 30 %, 0,1 % - 40 % o 0,1 % - 50 % en peso basado en la cantidad total del compuesto (1) en la composición. Como alternativa, la composición puede comprender al menos el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 %, el 99 %, el 99,5 % o el 99,9 % en peso de forma polimórfica específica basado en la cantidad total de compuesto (1) en la composición.

Los compuestos descritos en el presente documento se definen en el presente documento por sus estructuras químicas y/o nombres químicos. Donde se menciona un compuesto tanto por un estructura química como por un nombre químico y la estructura química y el nombre químico entran en conflicto, la estructura química es determinativa de la identidad del compuesto.

Los expertos en la materia apreciarán que en los procesos de la presente invención determinados grupos

funcionales tales como grupos hidroxilo o amino en los reactivos de partida o compuestos intermedios pueden necesitar ser protegidos por grupos protectores. Por tanto, la preparación de los compuestos descritos anteriormente puede incluir, en diversas etapas, la adición y eliminación de uno o más grupos protectores. La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en "Protective Groups in Organic Chemistry," editado por J. W. F. McOmie, Plenum Press (1973) y "Protective Groups in Organic Synthesis," 3ª edición, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Wiley Interscience y "Protecting Groups," 3ª edición, P. J. Kocienski, Thieme (2005).

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia.

El término "alifático" o "grupo alifático", tal como se usa en el presente documento, significa una cadena de hidrocarburo, de cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, que está completamente saturada o que contiene una o más unidades de insaturación pero es no aromática. Salvo que se especifique otra cosa, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos y en otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los grupos alifáticos pueden ser grupos alquilo, alquenilo o alquinilo lineales o ramificados, sustituidos o sin sustituir. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, isopropilo, n-propilo, sec-butilo, vinilo, n-butenilo, etinilo y *tert*-butilo y acetileno.

El término "cicloalifático" (o "carbociclo" o "carbociclilo" o "carbocíclico") se refiere a un sistema de anillo que contiene solamente carbono no aromático que puede estar saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, que tiene de tres a catorce átomos de carbono en el anillo. En algunas realizaciones, el número de átomos de carbono es de 3 a 10. En otras realizaciones, el número de átomos de carbono es de 4 a 7. En otras realizaciones más, el número de átomos de carbono es 5 o 6. El término incluye sistemas de anillos carbocíclicos, monocíclicos, bicíclicos o policíclicos, condensados, espiro o puenteados. El término también incluye sistemas de anillos policíclicos en los cuales el anillo carbocíclico puede estar "condensado" a uno o más anillos carbocíclicos o heterocíclicos no aromáticos o uno o más anillos aromáticos o una combinación de ambos, donde el radical o punto de unión está en el anillo carbocíclico. Los sistemas de anillos bicíclicos "condensados" comprenden dos anillos que comparten dos átomos contiguos en el anillo. El grupo bicíclico puentado comprende dos anillos que comparten tres o cuatro átomos adyacentes en el anillo. Los sistemas de anillos bicíclicos espiro comparten un átomo en el anillo. Los ejemplos de grupos cicloalifáticos incluyen, pero sin limitación, grupos cicloalquilo y cicloalquenilo. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, ciclohexilo, ciclopropenilo y ciclobutilo.

El término "alquilo" como se usa en el presente documento significa una cadena de hidrocarburo saturada lineal o ramificada. En algunas realizaciones, el "alquilo" es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₄. El término "cicloalquilo" como se usa en el presente documento significa una cadena de hidrocarburo cíclica saturada. En algunas realizaciones, el "cicloalquilo" es alquilo C₃-C₈ o alquilo C₅-C₆. Cada uno de los "alquilo" o "cicloalquilo", como se usan en el presente documento, puede estar opcionalmente sustituido como se muestra a continuación.

Los sustituyentes adecuados del carbono saturado de un grupo alquilo, alifático, cicloalquilo o cicloalifático se seleccionan entre el grupo que consiste en: halógeno; -R^o; -OR^o; -SR^o; 1,2-metilenodioxi; 1,2-etilenodioxi; fenilo (Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -O(Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -(CH₂)₁₋₂(Ph), opcionalmente sustituido con R^o; -CH=CH(Ph), opcionalmente sustituido con -R^o; -NO₂; -CN; -N(R^o)₂; -NR^oC(O)R^o; -NR^oC(S)R^o; -NR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oC(S)N(R^o)₂; -NR^oCO₂R^o; -NR^oNR^oC(O)R^o; -NR^oNR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oNR^oCO₂R^o; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -CO₂R^o; -C(O)R^o; -C(S)R^o; -C(O)N(R^o)₂; -C(S)N(R^o)₂; -OC(O)N(R^o)₂; -OC(O)R^o; -C(O)N(OR^o)R^o; -C(NOR^o)R^o; -S(O)₂R^o; -S(O)₃R^o; -SO₂N(R^o)₂; -S(O)R^o; -NR^oSO₂N(R^o)₂; -NR^oSO₂R^o; -N(OR^o)R^o; -C(=NH)-N(R^o)₂ o -(CH₂)₀₋₂NHC(O)R^o; donde cada aparición independiente de R^o se selecciona entre hidrógeno, alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido, un anillo heterocíclico o de heteroarilo de 5-6 miembros sin sustituir, fenilo, -O(Ph) o -CH₂(Ph) o, dos apariciones independientes de R^o, en el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes, tomados junto con el átomo o átomos a los cuales está unido cada grupo R^o, forman un heterociclilo de 5-8 miembros, arilo carbocíclico o anillo de heteroarilo o un anillo de cicloalquilo de 3-8 miembros, donde dicho anillo de heteroarilo o de heterociclilo tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de R^o se seleccionan entre NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halógeno, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) o haloalifático C₁₋₄, CHO, N(CO)(alifático C₁₋₄), C(O)N(alifático C₁₋₄), donde cada uno de los anteriores grupos alifáticos C₁₋₄ de R^o está sin sustituir. Los sustituyentes adicionales incluyen: =O, =S, =NNHR*, =NN(R*)₂, =NNHC(O)R*, =NNHCO₂(alquilo C₁₋₄), =NNHSO₂(alquilo C₁₋₄) o =NR*, donde cada R* se selecciona independientemente entre hidrógeno o un alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido. Los sustituyentes opcionales del grupo alifático de R* se seleccionan entre NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halógeno, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) o halo(alifático C₁₋₄), donde cada uno de los anteriores grupos alifáticos C₁₋₄ de R* está sin sustituir.

Tal como se usa en el presente documento, el término "alcoxi", tal como se usa en el presente documento, se refiere

a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, unido a la molécula a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi" por ejemplo, -O-alquilo).

Tal como se usa en el presente documento, los términos "halógeno", "halo" y "hal" significan F, Cl, Br o I.

5 Los términos "haloalquilo", "haloalquenilo", "haloalifático" y "haloalcoxi" significan alquilo, alquenilo, alifático o alcoxi, según sea el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. Este término incluye grupos alquilo perfluorados, tales como -CF₃ y -CF₂CF₃.

10 Tal como se usa en el presente documento, "ciclo", "cíclico", "grupo cíclico" o "resto cíclico", incluyen sistemas de anillo mono, bi y tricíclicos incluyendo cicloalifáticos, heterocicloalifáticos, arilo carbocíclico o heteroarilo, cada uno de los cuales se ha definido anteriormente.

15 Tal como se usa en el presente documento, un "sistema de anillo bicíclico" incluye estructuras de 8-12 (por ejemplo, 9, 10 u 11) miembros que forman dos anillos, en el que los dos anillos tienen al menos un átomo en común (por ejemplo, 2 átomos en común). Los sistemas de anillos bicíclicos incluyen bicicloalifáticos (por ejemplo, bicicloalquilo o bicicloalquenilo), bicicloheteroalifáticos, arilos carbocíclicos bicíclicos y heteroarilos bíclicos.

20 Tal como se usa en el presente documento, un "sistema de anillo bicíclico puenteado" se refiere a un sistema de anillo heterocicloalifático bicíclico o sistema de anillo cicloalifático bicíclico en el que los anillos están puenteados. Los ejemplos de sistemas de anillos bicíclicos puenteados incluyen, pero sin limitación, adamantanilo, norbornanilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.2.3]nonilo, 2-oxa-biciclo[2.2.2]octilo, 1-aza-biciclo[2.2.2]octilo, 3-aza-biciclo[3.2.1]octilo y 2,6-dioxa-triciclo[3.3.1.03,7]nonilo. Un sistema de anillo bicíclico
25 puenteado puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como alquilo (incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo y haloalquilo tal como trifluorometilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo carbocíclico, heteroarilo, alcoxi, cicloalquiloxi, heterocicloalquiloxi, (arilo carbocíclico)oxi, heteroariloxi, aralquiloxi, heteroaralquiloxi, aroilo, heteroarilo, nitro, carboxi, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxi, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, (arilo carbocíclico)carbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxi, urea, tiourea, sulfamilo, sulfamida, oxo o carbamilo.

30 Tal como se usa en el presente documento, "puente" se refiere a un enlace o un átomo o una cadena de átomos sin ramificar conectado a dos partes diferentes de una molécula. Los dos átomos que están conectados a través del
35 puente (normalmente pero no siempre dos átomos de carbono terciario) se denominan "cabezas de puente".

Tal como se usa en el presente documento, el término "espiro" se refiere a sistemas de anillo que tienen un átomo (normalmente un carbono cuaternario) como el único átomo común entre dos anillos.

40 El término "átomo del anillo" es un átomo tal como C, N, O o S que está en el anillo de un grupo aromático, un grupo cicloalquilo o un anillo heterocíclico no aromático.

45 Un "átomo del anillo sustituible" en un grupo aromático es un átomo de nitrógeno o de carbono del anillo unido a un átomo de hidrógeno. Opcionalmente, el hidrógeno puede sustituirse con un grupo sustituyente adecuado. Por tanto, el término "átomo del anillo sustituible" no incluye átomos de carbono o nitrógeno del anillo que están compartidos cuando dos anillos están condensados. Además, "átomo del anillo sustituible" no incluye átomos de nitrógeno o carbono del anillo cuando la estructura representa que estos ya están unidos a un resto distinto de hidrógeno.

50 El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio (incluyendo cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR⁺ (como en pirrolidinilo N sustituido)).

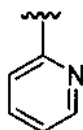
55 La selección de los sustituyentes y combinaciones de sustituyentes previstos por la presente invención son aquellos que dan como resultado la formación de compuestos estables o factibles químicamente. El término "estable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran de forma sustancial cuando se los somete a condiciones para permitir su producción, detección y, específicamente, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos desvelados en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto factible químicamente es uno que no se altera sustancialmente cuando se
60 mantiene a una temperatura de 40 °C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana. Solamente se contemplan aquellas elecciones y combinaciones de sustituyentes que dan como resultado una estructura estable. Dichas elecciones y combinaciones serán evidentes para los expertos en la técnica y pueden determinarse sin excesiva experimentación.

65 Las expresiones "grupo protector" y "grupo proteccionista", como se usan en el presente documento, son intercambiables y se refieren a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más grupos funcionales

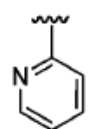
deseados en un compuesto con múltiples sitios reactivos. En determinadas realizaciones, un grupo protector tiene una o más o específicamente todas las características siguientes: a) se agrega de forma selectiva a un grupo funcional con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es b) estable a las reacciones que tienen lugar en uno o más de los otros sitios reactivos y c) se elimina de forma selectiva con buen rendimiento mediante reactivos que no atacan al grupo funcional desprotegido regenerado. Como entenderán los expertos en la técnica, en algunos casos, los reactivos no atacan otros grupos reactivos del compuesto. En otros casos, los reactivos también pueden reaccionar con otros grupos reactivos en el compuesto. Se detallan ejemplos de grupos protectores en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999 (y otras ediciones del libro), cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia. El término "grupo protector de nitrógeno", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos de nitrógeno deseados en un compuesto multifuncional. Los grupos protectores de nitrógeno preferidos también poseen las características ejemplificadas para un grupo protector anterior y algunos grupos protectores de nitrógeno a modo de ejemplo también se detallan en el capítulo 7 en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "resto desplazable" o "grupo saliente" se refiere a un grupo que está asociado con un grupo alifático o aromático tal como se define en el presente documento y está sometido a ser desplazado por ataque nucleófilo mediante un nucleófilo.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también están destinadas a incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantiomérica, diastereomérica, cis-trans, conformacional y rotacional) de la estructura. Por ejemplo, las configuraciones R y S de cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (**Z**) y (**E**) y los isómeros conformacionales (**Z**) y (**E**) están incluidos dentro de la presente invención, a menos que de manera específica se dibuje solamente uno de los isómeros. Como entenderá un experto en la técnica, un sustituyente puede rotar libremente alrededor de cualquier enlace giratorio. Por ejemplo, un sustituyente dibujado como



también representa



Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas, cis/trans, conformacionales y rotacionales de los presentes compuestos están dentro del alcance de la presente invención.

A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención.

Además, salvo que se indique de otro modo, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren solamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido ^{13}C o ^{14}C , están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos. Dichos compuestos, especialmente los análogos de deuterio, también pueden ser útiles terapéuticamente.

Los compuestos descritos en el presente documento se definen por sus estructuras químicas y/o nombres químicos. Donde se menciona un compuesto tanto por un estructura química como por un nombre químico y la estructura química y el nombre químico entran en conflicto, la estructura química es determinativa de la identidad del compuesto.

Los expertos en la materia apreciarán que los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden contener un centro quiral. Los compuestos de la fórmula pueden existir por tanto en la forma de dos isómeros ópticos diferentes (es decir enantiómeros (+) o (-)). Todos estos enantiómeros y sus mezclas, incluyendo mezclas

racémicas, están incluidos dentro del alcance de la invención. El isómero óptico individual o enantiómero puede obtenerse por un método bien conocido en la técnica, tal como HPLC quiral, resolución enzimática y auxiliar quiral.

En una realización, los compuestos de acuerdo con la presente invención se proporcionan en forma de un enantiómero individual al menos un 95 %, al menos un 97 % y al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero.

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma de el enantiómero (+) al menos un 95 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma de el enantiómero (+) al menos un 97 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (+) al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero (-).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-) al menos un 95 % libre del correspondiente enantiómero (+).

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-) al menos un 97 % libre del correspondiente enantiómero (+).

En una realización más los compuestos de acuerdo con la presente invención están en forma del enantiómero (-) al menos un 99 % libre del correspondiente enantiómero (+).

III. USOS DE LOS COMPUESTOS

Los compuestos divulgados en el presente documento pueden usarse para inhibir la replicación de los virus de la gripe en una muestra biológica o en un paciente, para reducir la cantidad de virus de la gripe (reducir el título vírico) en una muestra biológica o en un paciente y para tratar la gripe en un paciente. En una realización, la presente invención se refiere en general al uso de los compuestos divulgados en el presente documento (por ejemplo, en composiciones farmacéuticamente aceptables) para cualquiera de los usos especificados anteriormente.

En otra realización más, los compuestos divulgados en el presente documento pueden usarse para reducir el título vírico en una muestra biológica (por ejemplo, un cultivo de células infectadas) o en seres humanos (por ejemplo, título vírico pulmonar en un paciente).

Las expresiones "afección mediada por el virus de la gripe", "infección por gripe" o "gripe", tal como se usa en el presente documento, se usan de manera indistinta para hacer referencia a la enfermedad causada por una infección por un virus de la gripe.

La gripe es una enfermedad infecciosa que afecta a aves y mamíferos provocada por virus de la gripe. Los virus de la gripe son virus de ARN de la familia *Orthomyxoviridae*, que comprende cinco géneros: virus Influenza A, virus Influenza B, virus Influenza C, virus ISA y virus Thogoto. El género de virus Influenza A tiene una especie, el virus de la gripe A, que puede subdividirse en diferentes serotipos, basándose en la respuesta de anticuerpo frente a estos virus: H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N7, H1N2, H9N2, H7N2, H7N3 y H10N7. Algunos ejemplos adicionales de virus de la gripe A incluyen H3N8 y H7N9. El género de virus Influenza B tiene una especie, el virus de la gripe B. La gripe B infecta de manera prácticamente exclusiva a seres humanos y es menos común que la gripe A. El género del virus influenza C tiene una especie, el virus de la gripe C, que infecta a seres humanos y cerdos y puede provocar una enfermedad grave y epidemias locales. Sin embargo, el virus de la gripe C es menos común que los otros tipos y parece que normalmente causa una enfermedad leve en niños.

En algunas realizaciones de la invención, la gripe o los virus de la gripe se asocian con el virus Influenza A o B. En algunas realizaciones de la invención, la gripe o los virus de la gripe se asocian con el virus Influenza A. En algunas realizaciones específicas de la invención, el virus Influenza A es H1N1, H2N2, H3N2 o H5N1. En algunas realizaciones específicas de la invención, el virus Influenza A es H1N1, H3N2, H3N8, H5N1 y H7N9. En algunas realizaciones específicas de la invención, el virus Influenza A es H1N1, H3N2, H3N8 y H5N1.

En seres humanos, los síntomas comunes de la gripe son escalofríos, fiebre, faringitis, dolores musculares, cefalea grave, tos, debilidad y malestar general. En los casos más serios, la gripe causa neumonía, que puede ser letal, en particular en niños pequeños y ancianos. Aunque normalmente se confunde con el resfriado común, la gripe es una enfermedad mucho más grave y está provocada por un tipo de virus distinto. La gripe puede producir náuseas y vómitos, especialmente en niños, pero estos síntomas son más característicos de la gastroenteritis no relacionada, que en ocasiones se denomina "gripe estomacal" o "gripe de 24 horas".

Los síntomas de la gripe pueden iniciarse de manera bastante repentina uno o dos días después de la infección.

Normalmente, los primeros síntomas son escalofríos o una sensación de frío, pero la fiebre suele ser frecuente de manera temprana en la infección, con temperaturas corporales en el intervalo de 38-39 °C (aproximadamente 100-103 °F). Muchas personas se encuentran tan enfermas que permanecen encamadas durante varios días, con molestias y dolores por todo el cuerpo, que son peores en la espalda y las piernas. Los síntomas de la gripe pueden

- 5 incluir: molestias corporales, especialmente en articulaciones y garganta, frío extremo y fiebre, cansancio, cefalea, ojos llorosos e irritados, ojos, piel (especialmente facial), boca, garganta y nariz enrojecidos, dolor abdominal (en niños con gripe B). Los síntomas de la gripe son inespecíficos, que se solapan con muchos patógenos ("enfermedades gripales"). Normalmente, se necesitan datos de laboratorio para confirmar el diagnóstico.
- 10 Los términos "enfermedad", "trastorno" y "afección" pueden usarse de manera indistinta en el presente documento para referirse a una afección médica o patológica mediada por el virus de la gripe.

- Tal como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se usan de manera indistinta. Los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un animal (por ejemplo, un ave, tal como un pollo, codorniz o pavo o a un
- 15 mamífero), específicamente, un "mamífero", incluyendo un no primate (por ejemplo, una vaca, cerdo, caballo, oveja, conejo, cobaya, rata, gato, perro y ratón) y un primate (por ejemplo, un mono, chimpancé y un ser humano) y más específicamente, un ser humano. En una realización, el sujeto es un animal no humano, tal como un animal de granja (por ejemplo, un caballo, vaca, cerdo u oveja) o una mascota (por ejemplo, un perro, gato, cobaya o conejo). En una realización preferida, el sujeto es un "ser humano".

- 20 La expresión "muestra biológica", tal como se usa en el presente documento, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

- 25 Tal como se usa en el presente documento, "multiplicidad de infección" o "MDF" es la relación de agentes infecciosos (por ejemplo, fago o virus) a dianas de la infección (por ejemplo, células). Por ejemplo, cuando se hace referencia a un grupo de células inoculadas con partículas víricas infecciosas, la multiplicidad de la infección o MDF es la relación definida por el número de partículas de virus infecciosas depositadas en un pocillo dividido entre el número de células diana presentes en ese pocillo.

- 30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "inhibición de la replicación de virus de la gripe" incluye tanto la reducción en la cantidad de replicación del virus (por ejemplo, la reducción de al menos un 10 %) y la detención completa de la replicación del virus (es decir, una reducción del 100 % de la cantidad de replicación del virus). En algunas realizaciones, la replicación de los virus de la gripe se inhibe en al menos un 50 %, al menos un
- 35 65 %, al menos un 75 %, al menos un 85 %, al menos un 90 % o al menos un 95 %.

- La replicación del virus de la gripe puede medirse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, puede medirse el título vírico de la gripe en una muestra biológica (por ejemplo, un cultivo de células infectadas) o en seres humanos (por ejemplo, título vírico pulmonar en un paciente). Más específicamente, para
- 40 ensayos basados en células, en cada caso las células se cultivan *in vitro*, se añade virus al cultivo en presencia o ausencia de un agente de ensayo y después de un tiempo adecuado, se evalúa un criterio de valoración dependiente del virus. Para los ensayos típicos, pueden usarse células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) y la cepa de gripe adaptada a cultivo tisular, A/Puerto Rico/8/34. Un primer tipo de ensayo celular que puede usarse en la invención depende de la muerte de las células diana infectadas, un proceso denominado efecto citopático (CPE),
- 45 donde la infección del virus provoca el agotamiento de los recursos de la célula y en última instancia, la lisis de la célula. En el primer tipo de ensayo celular, se infecta una pequeña proporción de las células en los pocillos de una placa de microtitulación (normalmente, de 1/10 a 1/1000), se deja que el virus pase por varias rondas de replicación a lo largo de 48-72 horas, después se mide la cantidad de muerte celular usando una reducción en el contenido de ATP celular e comparación con los controles no infectados. Un segundo tipo de ensayo celular que puede emplearse en la invención depende de la multiplicación de moléculas de ARN específicas del virus en las células infectadas,
- 50 midiéndose los niveles de ARN directamente usando el método de hibridación de ADN de cadena ramificada (ADNr). En el segundo tipo de ensayo celular, se infecta inicialmente un bajo número de células en los pocillos de una placa de microtitulación, se deja que se replique el virus en las células infectadas y se disperse a ciclos de células adicionales, después, se lisan las células y se mide el contenido de ARN. Este ensayo se detiene de manera
- 55 temprana, normalmente tras 18-36 horas, mientras que todas las células diana siguen siendo viables. El ARN vírico se cuantifica por hibridación con sondas de oligonucleótidos específicas fijadas a los pocillos de una placa de ensayo, seguido de amplificación de la señal por hibridación con sondas adicionales unidas a una enzima indicadora.

- 60 Tal como se usa en el presente documento el "título vírico" es la medida de la concentración de virus. Las pruebas de titulación pueden emplear dilución seriada para obtener información cuantitativa aproximada mediante un procedimiento analítico que de manera inherente solo evalúa respecto de positivo o negativo. El título corresponde al máximo factor de dilución que sigue proporcionando una lectura positiva; por ejemplo, las lecturas positivas en las primeras 8 diluciones seriadas de factor dos se traducen en un título de 1:256. Un ejemplo específico es el título vírico. Para determinar el título, se prepararán varias diluciones, tal como 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} . El
- 65 título vírico es la menor concentración del virus que siga infectando a células.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se refieren a tratamientos tanto terapéuticos como profilácticos. Por ejemplo, los tratamientos terapéuticos incluyen la reducción o la mejora de la progresión, la gravedad y/o la duración de afecciones mediadas por el virus de la gripe o la mejora de uno o más síntomas (específicamente, uno o más síntomas discernibles) de afecciones mediadas por virus de la gripe, que sea el resultado de la administración de una o más terapias (por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos, tales como un compuesto o composición de la invención). En realizaciones específicas, el tratamiento terapéutico incluye la mejora de al menos un parámetro físico medible de una afección mediada por el virus de la gripe. En otras realizaciones, el tratamiento terapéutico incluye la inhibición de la progresión de una afección mediada por el virus de la gripe, ya sea físicamente, por ejemplo, estabilizando un síntoma discernible, fisiológicamente, por ejemplo, estabilizando un parámetro físico, o ambos. En otras realizaciones, el tratamiento terapéutico incluye la reducción o la estabilización de infecciones mediadas por virus de la gripe. Pueden usarse fármacos antivíricos en el ambiente comunitario para tratar a personas que ya tienen gripe para reducir la gravedad de los síntomas y reducir el número de días que están enfermos.

El término "quimioterapia" se refiere al uso de medicaciones, por ejemplo, fármacos de molécula pequeña (en lugar de "vacunas") para tratar un trastorno o enfermedad.

El término "profilaxis" o las expresiones "uso profiláctico" y "tratamiento profiláctico", tal como se usan en el presente documento, se refieren a cualquier procedimiento médico o de salud pública cuyo fin sea prevenir, en lugar de tratar o curar una enfermedad. Tal como se usa en el presente documento, los términos "prevenir", "prevención" y "previniendo" se refieren a la reducción del riesgo de adquirir o desarrollar una afección dada o a la reducción o la inhibición de la aparición de dicha afección en un sujeto que no está enfermo, pero que ha estado o pueda estar próximo a una persona con la enfermedad. El término "quimioprofilaxis" se refiere al uso de medicaciones, por ejemplo, fármacos de molécula pequeña (en lugar de "vacunas") para la prevención de un trastorno o enfermedad.

Tal como se usa en el presente documento, el uso profiláctico incluye el uso en situaciones en las que se ha detectado un brote epidémico, para prevenir el contagio o la dispersión de la infección en sitios donde viven próximas unas de otras personas grandes cantidades de personas que se encuentran en riesgo de complicaciones graves a causa de la gripe (por ejemplo, en una instalación hospitalaria, centro de cuidados de día, prisión, geriátricos, etc.). También incluye el uso entre poblaciones que requieren protección frente a la gripe pro que no obtienen protección después de la vacunación (por ejemplo, a causa de un sistema inmunitario débil) o cuando no tienen la vacuna a su disposición o cuando no se les puede administrar la vacuna debido a sus efectos secundarios. También incluye el uso durante las dos semanas posteriores a la vacunación, ya que durante ese tiempo, la vacuna aún no es eficaz. El uso profiláctico también puede incluir tratar a una persona que no ha contraído la gripe o que no se considera en alto riesgo de complicaciones, para reducir las probabilidades de que se infecte por gripe y que pueda transmitirla a una persona de alto riesgo en contacto estrecho con la misma (por ejemplo, trabajadores sanitarios, empleados de geriátricos, etc.).

Según el CDC de los EE. UU., un "brote epidémico" de gripe se define como un aumento repentino de enfermedad respiratoria febril aguda (AFRI) que se produce en un periodo de 48 a 72 horas, en un grupo de personas que están muy próximas entre sí (por ejemplo, en el mismo área de una instalación de vivienda asistida, en el mismo hogar, etc.) por encima de la tasa de fondo normal o cuando cualquier sujeto en la población que se esté analizando de positivo en pruebas de gripe. Un caso de gripe confirmado mediante cualquier método de prueba se considera un brote epidémico.

Un "brote" se define como un grupo de tres o más casos de AFRI que se producen en un periodo de 48 a 72 horas, en un grupo de personas que están muy próximas entre sí (por ejemplo, en el mismo área de una instalación de vivienda asistida, en el mismo hogar, etc.).

Tal como se usa en el presente documento, el "caso inicial", "caso primario" o "paciente cero" es el paciente inicial en la muestra de población de una investigación epidemiológica. Cuando se usa en general para referirse a dichos pacientes en investigaciones epidemiológicas, no se emplean mayúsculas en este término. Cuando el término se usa para referirse a una persona específica en lugar del nombre de esa persona en un informe acerca de una investigación específica, se emplean mayúsculas, indicándolo como Paciente cero. Normalmente, los científicos buscan el caso inicial para determinar cómo se ha dispersado la enfermedad y qué reservorio conserva la enfermedad entre brotes epidémicos. Obsérvese que el caso inicial es el primer paciente que indica la existencia de un brote epidémico. Pueden encontrarse casos más tempranos y se denominan primarios, secundarios, terciarios, etc.

En una realización, los métodos de la invención son una medida preventiva o "presintomática" para un paciente, específicamente un ser humano, que tiene predisposición a complicaciones causadas por la infección por un virus de la gripe. El término "presintomático", tal como se usa en el presente documento como en uso presintomático, "de manera presintomática", etc., es el uso profiláctico en situaciones en las que se ha confirmado un "caso inicial" o un "brote epidémico", para prevenir la dispersión de la infección en el resto de la comunidad o grupo de población.

En otra realización, los métodos de la invención se aplican como una medida "presintomática" a miembros de una

comunidad o grupo de población, específicamente seres humanos, para prevenir la dispersión de la infección.

Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para desencadenar la respuesta biológica deseada. En la presente invención, la respuesta biológica deseada es inhibir la replicación del virus de la gripe, reducir la cantidad de virus de la gripe o reducir o mejorar la gravedad, duración, progresión o inicio de una infección por virus de la gripe, prevenir el avance de una infección por virus de la gripe, prevenir la recidiva, el desarrollo, el inicio o la progresión de un síntoma asociado con una infección por el virus de la gripe o potenciar o mejorar los efectos profilácticos o terapéuticos de otra terapia usada contra las infecciones por gripe. La cantidad precisa de compuesto administrada a un sujeto dependerá del modo de administración, del tipo y la gravedad de la infección y de las características del sujeto, tales como el estado de salud general, la edad, el sexo, el peso corporal y la tolerancia a fármacos. El experto en la materia será capaz de determinar dosis adecuadas dependiendo de estos y otros factores. Cuando se administran junto con otros agentes antivíricos, por ejemplo, cuando se administran junto con una medicación antigripal, una "cantidad eficaz" del segundo agente dependerá del tipo de fármaco usado. Se conocen dosis adecuadas para agentes aprobados y pueden ajustarse por el experto en la materia según el estado del sujeto, el tipo de afecciones que se estén tratando y la cantidad de un compuesto descrito en el presente documento que se esté usando. En los casos donde no se indica expresamente una cantidad, debe inferirse una cantidad eficaz. Por ejemplo, los compuestos divulgados en el presente documento pueden administrarse a un sujeto en un intervalo de dosis de entre aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal/día para el tratamiento terapéutico o profiláctico.

En general, pueden seleccionarse las pautas posológicas de acuerdo con una serie de factores que incluyen el trastorno que se esté tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el género y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la función renal y hepática del sujeto; y el compuesto particular o una sal del mismo empleada, la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o casuales con el compuesto específico empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El experto en la materia puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de los compuestos descritos en el presente documento necesaria para tratar, prevenir, inhibir (total o parcialmente) o detener el progreso de la enfermedad.

Las dosis de los compuestos descritos en el presente documento pueden variar de entre 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal/día, de 0,01 a 50 mg/kg de peso corporal/día, de 0,1 a 50 mg/kg de peso corporal/día o de 1 a 25 mg/kg de peso corporal/día. Se entiende que la cantidad diaria total puede administrarse en una sola dosis o puede administrarse en múltiples dosis, tal como dos veces al día (por ejemplo, cada 12 horas), tres veces al día (por ejemplo, cada 8 horas) o cuatro veces al día (por ejemplo, cada 6 horas).

En algunas realizaciones, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento (por ejemplo, el compuesto (1) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo las diversas formas sólidas) se encuentran en el intervalo de 100 mg a 1.600 mg, tal como de 400 mg a 1.600 mg o de 400 mg a 1.200 mg. Cada dosis puede tomarse una vez al día (QD), dos veces al día (por ejemplo, cada 12 horas (BID)) o tres veces al día (por ejemplo, cada 8 horas (TID)). Cabe destacar que puede emplearse cualquier combinación de QD, BID y TID, según se desee, tal como BID en el día 1, seguido de QD posteriormente.

En una realización específica, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 400 mg a 1.600 mg, de 400 mg a 1.200 mg o de 600 mg a 1.200 mg una vez al día. En otra realización específica, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 400 mg a 1.600 mg, de 400 mg a 1.200 mg o de 300 mg a 900 mg dos veces al día. En otra realización específica más, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 400 mg a 1.000 mg una vez al día. En otra realización específica más, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 600 mg a 1.000 mg una vez al día. En otra realización específica más, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 600 mg a 800 mg una vez al día. En otra realización específica más, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 400 mg a 800 mg dos veces al día (por ejemplo, de 400 mg a 800 mg cada 12 horas). En otra realización específica más, las dosis de los compuestos descritos en el presente documento son de 400 mg a 600 mg dos veces al día.

En algunas realizaciones, se emplea un régimen de dosis de carga. En una realización específica, se emplea una dosis de carga de 400 mg a 1.600 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica, se emplea una dosis de carga de 600 mg a 1.600 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica, se emplea una dosis de carga de 800 mg a 1.600 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica más, se emplea una dosis de carga de 900 mg a 1.600 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica más, se emplea una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica más, se emplea una dosis de carga de 900 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica más, se emplea una dosis de carga de 1.000 mg en el día 1 de tratamiento. En otra realización específica más, se emplea una dosis de carga de 1.200 mg en el día 1 de tratamiento.

En una realización específica, la pauta de dosificación de los compuestos descritos en el presente documento emplea una dosis de carga de 600 mg a 1.600 mg en el día 1 y con una dosis regular de 300 mg a 1.200 mg durante

el resto de la duración del tratamiento. Cada dosis regular puede tomarse una vez al día, dos veces al día o tres veces al día o cualquier combinación de las mismas. En una realización específica adicional, se emplea una dosis de carga de 900 mg a 1.600 mg, tal como de 900 mg, 1.200 mg o 1.600 mg. En otra realización específica adicional, se emplea una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg, tal como de 900 mg o 1.200 mg. En otra realización específica adicional más, se emplea una dosis regular de 400 mg a 1.200 mg, tal como de 400 mg, 600 mg u 800 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica adicional más, se emplea una dosis regular de 400 mg a 1.000 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica adicional más, se emplea una dosis regular de 400 mg a 800 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica adicional más, se emplea una dosis regular de 300 mg a 900 mg dos veces al día. En otra realización específica adicional más, se emplea una dosis regular de 600 mg a 1.200 mg una vez al día. En otra realización específica adicional más, se usa una dosis regular de 600 mg dos veces al día en el día 2, seguida de una dosis de 600 mg una vez al día durante el resto de la duración del tratamiento.

Para el tratamiento terapéutico, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse a un paciente en, por ejemplo, las 48 horas posteriores (o las 40 horas posteriores o en menos de 2 días o en menos de 1,5 días o en menos de 24 horas) tras la aparición de los síntomas (por ejemplo, congestión nasal, irritación de garganta, tos, molestias, cansancio, cefaleas y escalofríos/sudores). Como alternativa, para el tratamiento terapéutico, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse a un paciente en, por ejemplo, las 96 horas posteriores a la aparición de los síntomas. El tratamiento terapéutico puede tener cualquier duración adecuada, por ejemplo, durante 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 10 días, 14 días, etc. Para el tratamiento terapéutico durante un brote epidémico comunitario, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse a un paciente, por ejemplo, en los 2 días posteriores a la aparición de los síntomas en el caso inicial y puede continuarse durante cualquier duración adecuada, por ejemplo, durante 7 días, 10 días, 14 días, 20 días, 28 días, 35 días, 42 días, etc., hasta durante toda la estación de gripe. Una estación de gripe es un periodo de tiempo anual recurrente caracterizado por la prevalencia de brotes epidémicos de gripe. En ocasiones, puede predecirse la actividad de la gripe e incluso puede rastrearse geográficamente. Aunque el inicio de una actividad de gripe importante en cada estación varía según la localización, en cualquier localización específica estas epidemias menores tardan normalmente entre 3-4 semanas en alcanzar un máximo y otras 3-4 semanas en reducirse significativamente. Normalmente, el Centro de Control de Enfermedades (CDC) recoge, compila y analiza información acerca de la actividad de la gripe durante todo el año en los Estados Unidos y elabora un informe semanal desde octubre hasta mediados de mayo.

En una realización, el tratamiento terapéutico dura desde 1 día hasta la estación de gripe completa. En una realización específica, el tratamiento terapéutico dura desde 3 días hasta 14 días. En otra realización específica, el tratamiento terapéutico dura desde 5 días hasta 14 días. En otra realización específica, el tratamiento terapéutico dura desde 3 días hasta 10 días. En otra realización específica más, el tratamiento terapéutico dura desde 4 días hasta 10 días. En otra realización específica más, el tratamiento terapéutico dura desde 5 días hasta 10 días. En otra realización específica más, el tratamiento terapéutico dura desde 4 días hasta 7 días (por ejemplo, 4 días, 5 días, 6 días o 7 días). En otra realización específica más, el tratamiento terapéutico dura desde 5 días hasta 7 días (por ejemplo, 5 días, 6 días o 7 días). En una realización específica, el tratamiento profiláctico dura hasta la estación de gripe completa.

En una realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días (por ejemplo, de 5 días a 14 días) con una dosis de carga de 900 mg a 1.600 mg en el día 1 y con una dosis regular de 300 mg a 1.200 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días (por ejemplo, de 5 días a 14 días) con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 y con una dosis regular de 400 mg a 1.000 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica más, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días (por ejemplo, de 5 días a 14 días) con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 y con una dosis regular de 400 mg a 800 mg durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica más, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días (por ejemplo, de 5 días a 14 días) con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 y con una dosis regular de 400 mg a 800 mg durante el resto de la duración del tratamiento. Cada dosis puede tomarse una vez al día, dos veces al día o tres veces al día o cualquier combinación de las mismas.

En una realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.600 mg en el día 1 y con una dosis regular de 600 mg a 1.000 mg una vez al día durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 y con una dosis regular de 600 mg a 800 mg (por ejemplo, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg u 800 mg) una vez al día durante el resto de la duración del tratamiento. En algunas realizaciones, la duración del tratamiento es durante de 4 días a 10 días, de 5 días a 10 días o de 5 días a 7 días.

En una realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.600 mg en el día 1 y con una dosis regular de 400

mg a 800 mg dos veces al día durante el resto de la duración del tratamiento. En otra realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 3 días a 14 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg en el día 1 y con una dosis regular de 400 mg a 600 mg (por ejemplo, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg o 600 mg) dos veces al día durante el resto de la duración del tratamiento. En algunas realizaciones, la duración es durante de 4 días a 10 días, de 5 días a 10 días o de 5 días a 7 días.

En una realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 4 días o 5 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg (por ejemplo, 900 mg o 1.200 mg) en el día 1 y con una dosis regular de 400 mg a 600 mg (por ejemplo, 400 mg o 600 mg) dos veces al día durante el resto de la duración del tratamiento (por ejemplo, los días 2 a 4 o los días 2 a 5). En otra realización específica, los compuestos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante de 4 días o 5 días con una dosis de carga de 900 mg a 1.200 mg (por ejemplo, 900 mg o 1.200 mg) en el día 1 y con una dosis regular de 600 mg a 800 mg (por ejemplo, 600 mg u 800 mg) una vez al día durante el resto de la duración del tratamiento.

Pueden emplearse varios tipos de métodos de administración en la invención y se describen en detalle a continuación en la sección titulada "Métodos de administración".

IV. TERAPIA DE COMBINACIÓN

Puede lograrse una cantidad adecuada en el método o la composición farmacéutica de la invención empleando un compuesto de la invención (incluyendo una sal o solvato (por ejemplo, hidrato) farmacéuticamente aceptable) solo o en combinación con un agente terapéutico adicional adecuado, por ejemplo, un agente antivírico o una vacuna. Cuando se emplea una "terapia de combinación", puede lograrse una cantidad eficaz usando una primera cantidad de un compuesto de la invención y una segunda cantidad de un agente terapéutico adecuado adicional (por ejemplo, un agente antivírico o una vacuna).

En otra realización de esta invención, se administran un compuesto de la invención y el agente terapéutico adicional, cada uno, en una cantidad eficaz (es decir, cada uno en una cantidad que sería terapéuticamente eficaz en caso de administrarse sola). En otra realización, se administran un compuesto de la invención y el agente terapéutico adicional, cada uno, en una cantidad que sola no proporciona un efecto terapéutico (una dosis subterapéutica). En otra realización más, puede administrarse un compuesto de la invención en una cantidad eficaz, mientras que el agente terapéutico adicional se administra en una dosis subterapéutica. En otra realización más, puede administrarse un compuesto de la invención en una dosis subterapéutica, mientras que el agente terapéutico adicional, por ejemplo, un agente terapéutico para el cáncer adecuado se administra en una cantidad eficaz.

Tal como se usa en el presente documento, las expresiones "en combinación" o "administración conjunta" pueden usarse de manera indistinta para hacer referencia al uso de más de un tratamiento (por ejemplo, uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). El uso del término no restringe el orden en que se administran las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos y/o terapéuticos) a un sujeto.

La administración conjunta abarca la administración de las cantidades primera y segunda de los compuestos de la administración conjunta de una manera esencialmente simultánea, tal como en una sola composición farmacéutica, por ejemplo, una cápsula o comprimido que tiene una proporción fija de las cantidades primera y segunda o en múltiples cápsulas o comprimidos individuales para cada una. Además, dicha administración conjunta también abarca el uso de cada compuesto de un modo secuencial en cualquier orden.

En una realización, la presente invención se refiere a métodos de terapia de combinación para inhibir la replicación de virus de la gripe en muestras biológicas o en pacientes o para tratar o prevenir infecciones por el virus de la gripe en pacientes que usan los compuestos descritos en el presente documento. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la invención también incluyen aquellas que comprenden un inhibidor de la replicación del virus de la gripe de la presente invención en combinación con un compuesto antivírico que muestra una actividad contra el virus de la gripe.

Los métodos de uso de los compuestos descritos en el presente documento y las composiciones de la invención también incluyen la combinación de quimioterapia con un compuesto o una composición de la invención o con una combinación de un compuesto o composición de la presente invención con otro agente antivírico y vacunación con una vacuna contra la gripe.

Cuando la administración conjunta implica la administración por separado de la primera cantidad de un compuesto de la invención y una segunda cantidad de un agente terapéutico adicional, los compuestos se administran lo suficientemente próximos en el tiempo para que tengan el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, el periodo de tiempo entre cada administración que puede dar como resultado el efecto terapéutico deseado, puede variar desde minutos hasta horas y puede determinarse teniendo en cuenta las propiedades de cada compuesto, tales como la potencia, solubilidad, biodisponibilidad, semivida en plasma y perfil cinético. Por ejemplo, pueden administrarse un compuesto de la invención y el segundo agente terapéutico en cualquier orden separados por menos de 24 horas entre sí, por menos de 16 horas entre sí, por menos de 8 horas entre sí, por menos de 4 horas entre sí, por menos

de 1 hora entre sí o por menos de 30 minutos entre sí.

Además, específicamente, puede administrarse una primera terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico, tal como un compuesto de la invención) antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), de manera concomitante o después de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un agente terapéutico o profiláctico, tal como un agente anticanceroso) a un sujeto.

Se entiende que el método de administración conjunta de una primera cantidad de un compuesto de la invención y una segunda cantidad de un agente terapéutico adicional puede dar como resultado un efecto terapéutico mejorado o sinérgico, en donde el efecto combinado es mayor que el efecto aditivo que resultaría de la administración por separado de la primera cantidad de un compuesto de la invención y la segunda cantidad de un agente terapéutico adicional.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sinérgico" se refiere a una combinación de un compuesto de la invención y otra terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico), que es más eficaz que los efectos aditivos de las terapias. Un efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) puede permitir el uso de dosis menores de una o más de las terapias y/o una administración menos frecuente de dichas terapias a un sujeto. La capacidad para utilizar dosis menores de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) y/o para administrar dichas terapias con menos frecuencia puede reducir la toxicidad asociada con la administración de dicha terapia a un sujeto sin reducir la eficacia de dicha terapia en la prevención, la gestión o el tratamiento de un trastorno. Además, un efecto sinérgico puede dar como resultado una eficacia mejorada de los agentes en la prevención, la gestión o el tratamiento de un trastorno. Finalmente, un efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) puede evitar o reducir los efectos secundarios adversos o no deseados asociados con el uso de cualquiera de las terapias de manera individual.

Cuando la terapia de combinación usando los compuestos de la presente invención es en combinación con una vacuna para la gripe, pueden administrarse ambos agentes terapéuticos de tal forma que el periodo de tiempo entre cada administración puede ser más largo (por ejemplo, días, semanas o meses).

Puede determinarse la presencia de un efecto sinérgico usando métodos adecuados para evaluar interacción de los fármacos. Los métodos adecuados incluyen, por ejemplo, la ecuación Sigmoide-Emax (Holford, N.H.G. y Scheiner, L.B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe, S. y Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) y la ecuación de mediana de efecto (Chou, T.C. y Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Puede aplicarse cada una de las ecuaciones citadas anteriormente con datos experimentales para generar una gráfica correspondiente para ayudar a evaluar los efectos de la combinación de fármacos. Las gráficas correspondientes asociadas con las ecuaciones citadas anteriormente son la curva de concentración-efecto, la curva de isoblograma y la curva de índice de combinación, respectivamente.

Los ejemplos específicos que pueden administrarse conjuntamente con compuesto descrito en el presente documento incluyen inhibidores de neuraminidasa, tales como oseltamivir (Tamiflu®) y Zanamivir (Rlenza®), bloqueadores de canales de iones víricos (proteína M2), tales como amantadina (Symmetrel®) y rimantadina (Flumadine®) y los fármacos antivíricos descritos en el documento WO 2003/015798, incluyendo T-705, que se encuentra en desarrollo por Toyama Chemical of Japan. (Véase también Ruruta et al., Antiviral Research, 82: 95-102 (2009), "T-705 (flavipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections"). En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse junto con una vacuna para la gripe tradicional. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse junto con zanamivir. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse junto con oseltamivir. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse junto con T-705. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse junto con amantadina o rimantadina. El oseltamivir puede administrarse con una pauta posológica indicada en su prospecto. En algunas realizaciones específicas, se administran 75 mg dos veces al día o 150 mg una vez al día.

V. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse en composiciones farmacéuticas que además comprenden un portador, diluyente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención descrito anteriormente y un portador, diluyente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador, diluyente,

adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticos seleccionados de manera adecuada con respecto a la forma prevista de administración y de una manera coherente con las prácticas farmacéuticas convencionales.

- 5 Una "cantidad eficaz" incluye una "cantidad terapéuticamente eficaz" y una "cantidad profilácticamente eficaz". La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz para tratar y/o mejorar una infección por el virus de la gripe en un paciente infectado por gripe. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz para prevenir y/o reducir sustancialmente las probabilidades o el tamaño de un brote pandémico de infección por el virus de la gripe. En la sección titulada "Usos de los compuestos divulgados" se describen ejemplos específicos de cantidades eficaces.

- 10 Un portador farmacéuticamente aceptable puede contener ingredientes inertes que no inhiben de manera indebida la actividad biológica de los compuestos. Los portadores farmacéuticamente aceptables han de ser biocompatibles, por ejemplo, no tóxicos, no inflamatorios, no inmunogénicos o estar desprovistos de otras reacciones o efectos secundarios no deseados tras su administración a un sujeto. Pueden emplearse técnicas de formulación farmacéutica convencionales.

- 20 El portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) divulga diversos portadores usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio portador convencional sea incompatible con los compuestos divulgados en el presente documento, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico no deseado o la interacción de otro modo perjudicial con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se contempla dentro del alcance de la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "efectos secundarios" abarca efectos no deseados y adversos de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico). Los efectos secundarios siempre son no deseados, pero los efectos no deseados no siempre son necesariamente adversos. Un efecto adverso de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) puede ser dañino o inconfortable o arriesgado. Los efectos secundarios incluyen, pero sin limitación, fiebre, escalofríos, letargia, toxicidad gastrointestinal (incluyendo úlceras y erosiones gástricas e intestinales), náuseas, vómitos, neurotoxicidad, nefrotoxicidad, toxicidad renal (incluyendo afecciones tales como necrosis papilar y nefritis intersticial crónica), toxicidad hepática (incluyendo niveles de enzimas hepáticas elevados en suero), mielotoxicidad (incluyendo leucopenia, mielosupresión, trombocitopenia y anemia), boca seca, gusto metálico, prolongación de la gestación, debilidad, somnolencia, dolor (incluyendo dolor muscular, dolor óseo y cefalea), caída del cabello, astenia, mareos, síntomas extrapiramidales, acatisia, alteraciones cardiovasculares y disfunción sexual.

- 40 Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas (tales como seroalbúmina humana), sustancias tamponadoras (tales como Tween 80, fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio), mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos (tales como sulfato de protamina, dihidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio o sales de cinc), sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lanolina, azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar también presentes en la composición, según el criterio del experto en formulación.

VI. MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

- 60 Los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables descritas anteriormente pueden administrarse a seres humanos y a otros animales por vía oral, por vía rectal, por vía parenteral, por vía intracisternal, por vía intravaginal, por vía intraperitoneal, por vía tópica (mediante polvos, pomadas o gotas), por vía bucal, como un pulverizador oral o nasal o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando.
- 65 Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los

principios activos, la forma farmacéutica líquida puede contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

10 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer, solución de cloruro sódico U. S. P. e isotónica. Además, normalmente se usan aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de los inyectables.

20 Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

25 Para prolongar el efecto de un compuesto descrito en el presente documento, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende por tanto de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de compuesto a polímero y de la naturaleza del polímero concreto empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectable también se preparan atrapando al compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

35 Las composiciones para administración rectal o vaginal son específicamente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos descritos en este documento con excipientes o vehículos no irritantes adecuados, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirán en el recto o en la cavidad vaginal y liberarán el compuesto activo.

45 Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución, tales como parafina, f) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponadores.

55 También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos únicamente, o preferentemente, en una parte específica del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los principios activos pueden estar también en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha señalado anteriormente. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas también pueden comprender, como es habitual, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para compresión y otros adyuvantes de compresión, tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas pueden comprender agentes tamponadores. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos únicamente, o preferentemente, en una parte específica del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de un compuesto descrito en este documento incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. El principio activo se mezcla en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario, según se requiera. Las formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios también se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al organismo. Dichas formas farmacéuticas pueden prepararse disolviendo o dispensando el compuesto en un medio adecuado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral, mediante aerosol para inhalación, por vía tópica, por vía rectal, por vía nasal, por vía bucal, por vía vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en el presente documento incluye, pero sin limitación, inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, inyección intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión. Específicamente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

Las formas inyectables estériles de las composiciones descritas en el presente documento pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en la materia usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, normalmente se usan aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, así como los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tal como aceite de oliva o aceite ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes de dispersión similares que normalmente se usan en la formulación de formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables, incluyendo emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos usados habitualmente, tales como los Tween, Span y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras farmacéuticamente aceptables también pueden usarse con fines de formulación.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse por vía oral en cualquier forma farmacéutica oralmente aceptable, incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones acuosas o soluciones. En el caso de los comprimidos para uso oral, los portadores comúnmente usados incluyen, pero sin limitación, lactosa y almidón de maíz. También se añaden normalmente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz deshidratado. Cuando se necesitan suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal. Estos pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen, pero sin limitación, manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento también pueden administrarse por vía tópica, especialmente cuando la diana de tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación

tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel o el tracto intestinal inferior. Se preparan fácilmente formulaciones tópicas adecuadas para cada una de estas áreas u órganos.

La administración tópica para el tracto intestinal inferior puede efectuarse en una formulación de supositorio rectal (véase lo anterior) o en una formulación en enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos por vía tópica.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los portadores para administración tópica de los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuestos de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una loción o crema adecuada que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, ésteres cetílicos de cera, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

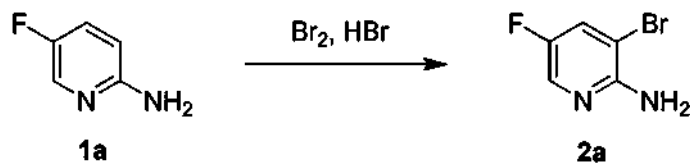
Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de suspensiones micronizadas en suero salino isotónico, estéril con el pH ajustado o, específicamente, en forma de soluciones en solución salina estéril isotónica, con el pH ajustado, ya sea con o sin un conservante, tal como cloruro de benzalconio. Como alternativa, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada, tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de formulación farmacéutica y pueden prepararse en forma de soluciones en suero salino, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

Los compuestos pueden formularse en una forma farmacéutica unitaria. La expresión "forma farmacéutica unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas en forma de dosis unitarias para sujetos que se someten a tratamiento, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, opcionalmente en asociación con un portador farmacéutico adecuado. La forma farmacéutica unitaria puede ser para una sola dosis diaria o para múltiples dosis diarias (por ejemplo, 1 a 4 o más veces al día). Cuando se usan múltiples dosis diarias, la forma farmacéutica unitaria puede ser igual o diferente para cada dosis.

VII. Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de 2-amino-3-bromo-5-fluoropiridina (Compuesto 2a)



Procedimiento A: A una suspensión de 2-amino-5-fluoropiridina (6 kg, 53,6 mol) en agua (24 l) a 14 °C se le añadió durante 10 minutos ácido bromhídrico al 48 % (18,5 kg, 110 mol). La reacción era exotérmica y la temperatura se elevó hasta los 24 °C. La mezcla se enfrió de nuevo a 12 °C, después se añadió bromo (9 kg, 56,3 mol) en nueve porciones durante 50 minutos (exotérmica, se mantuvo a 20 °C). La mezcla se agitó a 22 °C durante una noche y se controló por RMN ¹H de una alícuota inactivada (se inactivan 5 gotas en una mezcla de 1 ml de K₂CO₃ al 20 %, 0,3 ml de Na₂S₂O₃ al 10 % y 0,7 ml de DCM. La capa orgánica se evaporó y se analizó). La mezcla se enfrió a 10 °C, después se inactivó mediante la adición de bisulfito sódico (560 g, 5,4 mol) en agua (2 l) y se volvió a enfriar a 0 °C. Esta mezcla se añadió a una mezcla fría (-4 °C) de DCM (18 l) y hidróxido sódico 5,4 M (35 l, 189 mol). El fondo, ~35 l, se filtró a través de un lecho de Celite y después se separaron las fases. La capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM (10 l). Los extractos orgánicos se filtraron a través de un lecho de 3 kg magnesol, lavando con DCM (8 l). El filtrado se evaporó, se trituró con hexano y se filtró.

A pesar del ensayo en proceso que indica el 97 % de compleción, este producto inicial de las cuatro series contiene normalmente ~10 % de SM. Estos se combinaron y se trituraron en hexano (2 l por kg de material) a 50 °C, después se enfriaron a 15 °C y se filtraron para proporcionar el compuesto 2a (30,0 kg, ~95 % de pureza, 149 mol, 67 %). Los licores madre de la trituración inicial y la repurificación se cromatografiaron (20 kg de sílice, eluyente EtOAc al 25-50 % en hexano) para proporcionar más compuesto 2a (4,7 kg, ~99 % de pureza, 24,4 mol, 11 %).

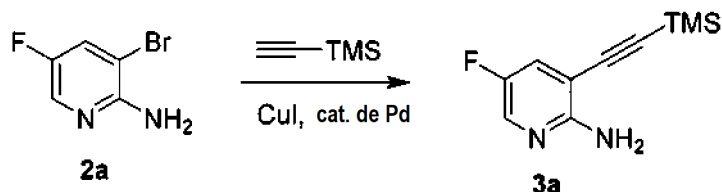
Procedimiento B: Como alternativa, la bromación se realizó empleando HOAc en lugar de HBr. En un ejemplo

específico, se disolvió aminopiridina (952 g, 8,49 mmol) en HOAc (7 l) y se trató con NaOAc (1,04 kg, 12,7 mmol) seguido de la adición gota a gota de Br₂ (con un embudo de goteo, se usó hielo para enfriar la reacción). Después de la adición de Br₂ la reacción se dejó en agitación a ta durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en agua y se basificó con la adición de NaOH 6 N. La reacción se extrajo con EtOAc. Una cantidad significativa de sólido no se disolvió en la fase orgánica o la acuosa. Toda la mezcla se filtró y se separaron las fases. La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró sobre un lecho de SiO₂ eluyendo con EtOAc. El filtrado se evaporó para dar un sólido de color pardo, 889 g.

Procedimiento C: Como alternativa, la bromación se realizó empleando H₂SO₄. En un ejemplo específico, a ácido sulfúrico al 93 % (12,5 kg, 119 mol) en agua (26 l) en un reactor de 50 l se le añadió 2-amino-5-fluoropiridina (6,5 kg, 58 mol). La temperatura se ajustó a 30 °C, después se añadió bromo (10 kg, 63 mol) en diez porciones durante tres horas. La mezcla se agitó a 45 °C durante 18 horas, después a 50 °C durante 5 horas. La mezcla se enfrió a 15 °C para tratamiento en un reactor de 400 l.

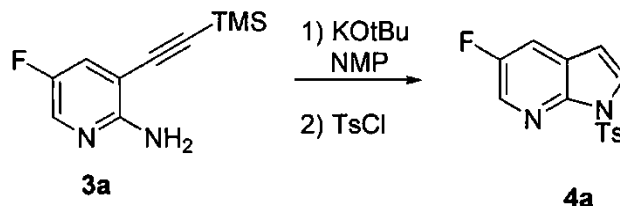
Cuatro de las anteriores reacciones (4 x 6,5 kg) se combinaron y se inactivaron en una mezcla de hidróxido sódico al 50 % (110 kg, 1375 mol) y tiosulfato sódico (1,8 kg, 11,4 mol) en agua (100 l) a -3 °C durante una hora. La temperatura se ajustó a 32 °C y la suspensión se filtró y se lavó con agua (80 l) para proporcionar agua y producto en bruto húmedo (62 kg). Se llevó a cabo una segunda serie de tres reacciones (3 x 6,5 kg SM) de forma similar para proporcionar agua y producto en bruto húmedo (41 kg). Los productos en bruto (103 kg) se disolvieron (algunos eran insolubles) en tolueno (280 kg) a 25-30 °C. Se añadió salmuera (20 kg) pero no se pudieron separar las fases debido a los sólidos. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, se lavó con tolueno y después se separaron las capas. Los extractos orgánicos se concentraron hasta un volumen de 347 l de azeótropo de agua residual para el uso de la preparación del compuesto **3a**. Se usó una alícuota para determinar la concentración del producto en 181 g por litro de solución. Rendimiento = 62,8 kg. Se aislaron 600 g más por extracción de la capa de agua y salmuera con acetato de etilo (10 l) y posterior filtración a través de un lecho de magnesol, evaporación y trituración con hexano. El rendimiento total es del 82 %.

Preparación del compuesto 3a



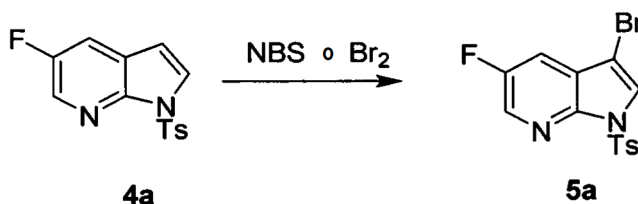
Procedimiento A: A un reactor de 400 l inerte se le cargó **2a** (27,5 kg, 96 % de pureza, 138 mol), Pd(PPh₃)₄ (1044 g, 0,90 mol) y CuI (165 g, 0,87 mol), seguido de tolueno (90 kg). La mezcla se desoxigenó con tres ciclos de vacío-nitrógeno, después se añadió trietilamina (19,0 kg, 188 mol). La mezcla se desoxigenó con uno o más ciclos de vacío-nitrógeno, después se añadió TMS-acetileno (16,5 kg, 168 mol). La mezcla se calentó a 48 °C durante 23 horas (la exotermia inicial elevó la temperatura hasta 53 °C máximo), después se enfrió a 18 °C. La suspensión se filtró a través de un lecho de Celite y se lavó con tolueno (80 kg). El filtrado se lavó con Na₂HPO₄ al 12 % (75 l), después se filtró a través de un lecho de sílice (25 kg), lavando con 1:1 de hexano:MTBE (120 l). Este filtrado se evaporó hasta un aceite de color pardo y después se disolvió en NMP para la etapa siguiente. Peso de una solución del compuesto **3a** - 58 kg, ~50 t % en peso, 138 mol, 100 %. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,90 (s, 1H); 7,33-7,27 (m, 1H); 4,92 (s, NH₂), 0,28 (s, 9H) ppm.

Procedimiento B: La 2-amino-3-bromo-5-fluoropiridina (**2a**: 10,7 g, 56 mmol) se trató con CuI (1,72 g, 9,03 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (2,87 g, 3,92 mmol), TMS acetileno (8,25 g, 11,8 ml, 84 mmol), THF (200 ml) y Et₃N (190 ml) y se calentó a reflujo durante una noche. Se consideró que la reacción se había completado por TLC y se vertió en agua (200 ml). Se separaron las fases y se extrajeron con EtOAc (3 x 200 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron (MgSO₄), se filtraron y el filtrado se concentró al vacío para dar un aceite que se solidificó al vacío. El sólido se disolvió en CH₂Cl₂ y se pasó a través de un lecho de SiO₂ eluyendo con CH₂Cl₂ para dar un sólido de color amarillo, 11,7 g, 93 % de rendimiento.

Preparación del compuesto 4a

- 5 A un reactor inerte de 400 l se le cargó t-butoxido potásico (17,5 kg, 156 mol) y NMP (45 kg). La mezcla se calentó a 54 °C, después se añadió una solución del compuesto **3a** (29 kg, 138 mol) en NMP (38 kg) durante 2,75 horas y se enjuagó con NMP (6 kg) (exotérmica, mantenida a 70-77 °C). La reacción se agitó a 74 °C durante 2 horas, después se enfrió a 30 °C y se añadió una solución de cloruro de tosilato (28,5 kg, 150 mol) en NMP (30 kg) durante 1,5 horas y se enjuagó con NMP (4 kg). La reacción era exotérmica y se mantuvo a 30-43 °C. La reacción se agitó durante 1
- 10 hora mientras se enfriaba a 20 °C, después se añadió agua (220 l) durante 35 minutos (exotérmica, mantenida a 18-23 °C). La mezcla se agitó a 20 °C durante 30 minutos, después se filtró y se lavó con agua (100 l). Los sólidos se disolvieron del filtro con DCM (250 kg), se separaron del agua residual y los extractos orgánicos se filtraron a través de un lecho de magnesol (15 kg, parte superior) y sílice (15 kg, parte inferior), se lavaron con extra de DCM (280 kg). El filtrado se concentró hasta una suspensión espesa (~50 l volumen), después se añadió MTBE (30 kg) mientras
- 15 continuaba la destilación a volumen constante (temperatura final del destilado de 51 °C). Se añadió más MTBE (10 kg) y la suspensión se enfrió a 15 °C, se filtró y se lavó con MTBE (40 l) para proporcionar el compuesto **4a** (19,13 kg, 95 % de pureza, 62,6 mol, 45 %). La concentración parcial del filtrado proporcionó un segundo cultivo (2,55 kg, 91 % de pureza, 8,0 mol, 6 %). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,28-8,27 (m, 1H); 8,06-8,02 (m, 2H); 7,77 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 7,54-7,50 (m, 1H); 7,28-7,26 (m, 2H); 6,56 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 2,37 (s, 3H) ppm.

20

Preparación del compuesto 5a

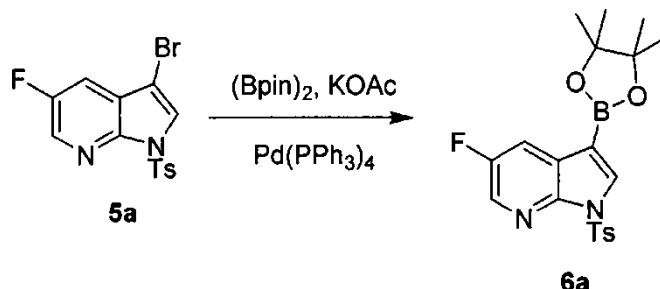
- 25 *Procedimiento A:* A una suspensión de N-bromosuccinimida (14,16 kg, 79,6 mol) en DCM (30 kg) a 15 °C se le cargó una solución del compuesto **4a** (19,13 kg, 95 % de pureza y 2,86 kg, 91 % de pureza, 71,6 mol) en DCM (115 kg), enjuagando con DCM (20 kg). La mezcla se agitó a 25 °C durante 18 horas y después se enfrió a 9 °C y se inactivó mediante la adición de una solución de tiosulfato sódico (400 g) e hidróxido sódico al 50 % (9,1 kg) en agua (130 l). La mezcla se calentó a 20 °C y las capas se separaron y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera al 12 %
- 30 (40 l). Las capas acuosas se volvieron a extraer secuencialmente con DCM (4 x 50 kg). Los extractos orgánicos se combinaron y se destilaron 40 l para formar un azeótropo con agua, después se filtró la solución se filtró a través de un lecho de sílice (15 kg, parte inferior) y magnesol (15 kg, parte superior), lavando con DCM (180 kg). El filtrado se concentró hasta una suspensión espesa (~32 l de volumen), después se añadió hexano (15 kg). Se añadió más hexano (15 kg) mientras continuaba la destilación a volumen constante (temperatura final de destilación 52 °C). La
- 35 suspensión se enfrió a 16 °C, se filtró y se lavó con hexano (25 kg) para proporcionar el compuesto **5a** (25,6 kg, 69,3 mol, 97 %). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,34-8,33 (m, 1H); 8,07 (d, J= 8,2Hz, 2H); 7,85 (s, 1H); 7,52-7,49 (m, 1H); 7,32-7,28 (m, 2H); 2,40 (s, 3H) ppm.

- 40 *Procedimiento B:* Se añadió una solución de Br₂ (115 ml, 1,15 equiv.) en CH₂Cl₂ (1 l), gota a gota, a una solución del compuesto **4a** (566 g, 1,95 mol) en CH₂Cl₂ (4 l) durante 90 minutos. Durante la adición, la temperatura aumentó de 16 a 23 °C y la mezcla de reacción se enfrió con un baño de hielo y sal a 10 °C. Después de completarse la adición, la temperatura se aumentó a 12 °C. La suspensión (un sólido de color naranja se formó durante la adición) se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. Se añadió NaHCO₃ ac. sat (4 l), cuidadosamente, durante 5-10 minutos. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 1 hora y se dejó que
- 45 las capas se separasen. La solución resultante se filtró con un filtro. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ ac. sat. (2 l) y salmuera (2x 1 l), se secó sobre Na₂SO₄ y se enjuagó sobre sílice (2 kg), eluyendo con CH₂Cl₂ (~10 l total). Los disolventes (~20 l) se eliminaron a presión reducida para dar el compuesto **5a** (580 g) en forma de un sólido de color blanco. El producto se disolvió de nuevo en CH₂Cl₂ (2,5 l) y se filtró sobre otro filtro con sílice (2 kg), eluyendo con CH₂Cl₂. Después de eliminar los disolventes a presión reducida se obtuvo el compuesto **5a** (568 g, 79 % de
- 50 rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino. Después de una reacción de ensayo para la siguiente etapa, el material restante se lavó con heptanos (2 x) y se secó para dar mejores resultados en la siguiente etapa.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,34-8,33 (m, 1H); 8,07 (d, $J = 8,2\text{Hz}$, 2H); 7,85 (s, 1H); 7,52-7,49 (m, 1H); 7,32-7,28 (m, 2H); 2,40 (s, 3H) ppm.

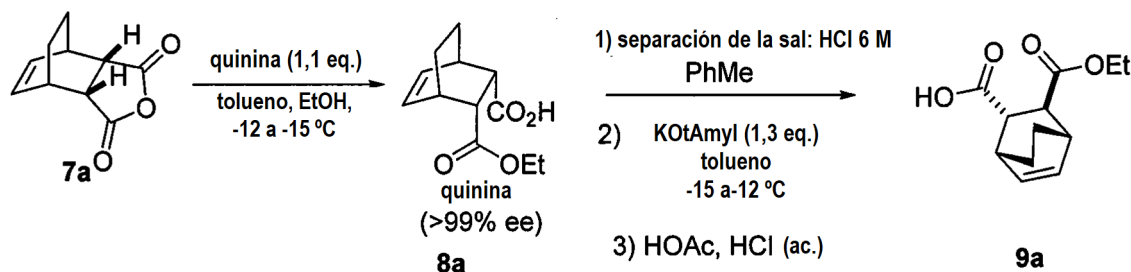
Preparación del compuesto 6a: Reacción BEFTAI

5



A un reactor inerte de 400 l se le cargó el compuesto **5a** (25,6 kg, 69,3 mol), bis(pinacolato)diboro (19 kg, 74,8 mol), acetato potásico (19 kg, 194 mol), acetato de paladio (156 g, 0,69 mol) y trifenilfosfina (564 g, 2,15 mol), seguido de dioxano (172 kg), que se había desoxigenado por separado usando ciclos de vacío-nitrógeno (x 3). La mezcla se agitó y se desoxigenó usando ciclos de vacío-nitrógeno (x 2), después se calentó a 100 °C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a 35 °C, después se filtró, lavando con THF a 30 °C (75 kg). El filtrado se evaporó y el residuo se disolvió en DCM (~90 l). La solución se agitó con 1 kg de carbono y 2 kg de magnesol durante 45 minutos, después se filtró a través de un lecho de sílice (22 kg, parte inferior) y magnesol (10 kg, parte superior), lavando con DCM (160 kg). El filtrado se concentró hasta una suspensión espesa (~40 l de volumen), después se trituró a 35 °C y se añadió hexano (26 kg). La suspensión se enfrió a 20 °C, se filtró y se lavó con una mezcla de DCM (5,3 kg) y hexano (15 kg), después hexano (15 kg) y se secó en atmósfera de nitrógeno sobre el filtro para proporcionar el compuesto **6a** (23,31 kg, 56,0 mol, 81 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H consistente con el producto deseado, HPLC 99,5 %, ensayo de paladio 2 ppm. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,25 (s, 1H); 8,18 (s, 1H); 8,09-8,02 (m, 2H); 7,91-7,83 (m, 1H); 7,30-7,23 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 1,38 (s, 12H) ppm.

Preparación de los compuestos 8a y 9a



Compuesto 8a: Se añadieron anhídrido **7a** (24,6 kg, Apex) y quinina (49,2 kg, Buchler) a un reactor seguido de la adición de PhMe anhidro (795,1 kg). Después se enfrió el reactor a -16 °C y se añadió EtOH (anhídrido, 41,4 kg) a un caudal tal que mantuviera la temperatura interna del reactor a < -12 °C. La temperatura máxima de reacción registrada para el experimento fue de -16 °C. Después, la mezcla de reacción se agitó durante 16 h a -16 °C. Se retiró una muestra y se filtró. El sólido se secó y se evaluó por RMN ^1H que mostró que no quedaba anhídrido. Los contenidos del reactor se filtraron. El reactor y la posterior torta húmeda se lavaron con PhMe (anhídrido, 20 kg). El sólido resultante se puso en un secador de bandeja a < 45 °C con un barrido con N_2 durante al menos 48 h. En este experimento, la temperatura real fue de 44 °C y el vacío fue de -30 inHG (101,59 kPa). El material se muestreó después de un secado de 2,5 días y mostró un 3 % de PhMe por RMN. Después de 8 h más, la cantidad de PhMe analizada mostró el mismo 3 % de PhMe presente y el secado se detuvo. El peso del sólido de color blanco fue de 57,7 kg, rendimiento del 76 %. La RMN ^1H mostró consistencia con la estructura y el análisis quiral por SFC mostró d.e. del material >99 %.

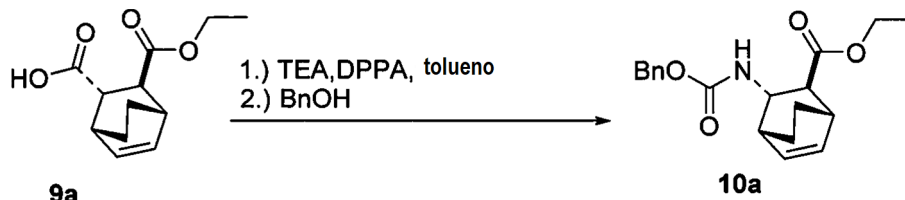
Compuesto 9a: El reactor se cargó con sal de quinina **8a** (57,7 kg) y PhMe (250,5 kg, Aldrich ACS grade, >99,5 %) y se puso en marcha el agitador. Los contenidos se enfriaron a <15 °C y se trataron con HCl 6 N (se trataron 18 kg de H_2O con 21,4 kg de HCl conc.) mientras se mantuvo la temperatura a <25 °C. La mezcla se agitó durante 40 min. y se inspeccionó de manera visual para verificar que no hubiera sólidos presentes. Se detuvo la agitación y se dejó que se sedimentaran las fases y se separaron las fases. Las fases acuosas se extrajeron de nuevo con PhMe (160 kg; la cantidad normalmente usada era mucho menos de, calc. 43 kg. Sin embargo, para una agitación eficiente debido al mínimo volumen, se añadió más PhMe. Las fases orgánicas se combinaron. Se muestra la fase orgánica y se lleva a cabo análisis de HPLC para asegurar que el producto está presente; ensayo solo a título informativo.

Las fases orgánicas se enfriaron a $<5^{\circ}\text{C}$ ($0-5^{\circ}\text{C}$) y se añadió sulfato sódico (anhidro, 53,1 kg) con agitación durante 8 h (en este caso 12 h). Los contenidos del reactor que contenían la fase orgánica se pasaron a través de un filtro que contenía sulfato sódico (31 kg, anhidro) y dentro de un reactor limpio y seco. El reactor se aclaró con PhMe (57,4 kg), que se pasó a través del filtro dentro del reactor 201. Se puso en marcha el agitador y se añadió una cantidad adicional de PhMe (44 kg) y la mezcla de reacción se enfrió a -20°C . A esta temperatura se añadió una solución en PhMe de *terc*-pentóxido de potasio durante 2 h mientras se mantenía la temperatura entre -15 y -22°C . La mezcla de reacción se mantuvo a aproximadamente -20°C durante otros 30 min antes de ser muestreada. El muestreo se realizó eliminando una alícuota con enfriamiento inmediato en HCl 6 N.

Habiendo conseguido la proporción diana (96:4 (trans:cis), se cargó el reactor con ácido acético (2,8 kg) durante 6 min. La temperatura se mantuvo a -20°C . La temperatura se ajustó después a -5°C y se añadió HCl acuoso 2 N (65,7 kg de agua tratada con 15,4 kg de HCl conc.). Los contenidos se calentaron a $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, se agitaron durante 45 min antes de calentar a $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ con agitación durante 15 min. Se detuvo el agitador y se dejaron sedimentar las fases. La capa acuosa se eliminó. La fase orgánica se lavó con agua (48 kg, potable), se agitó durante 15 min y se dejaron sedimentar las fases (al menos 15 min) y la capa acuosa se eliminó y se añadió a la capa acuosa. 1/3 de una solución tampón (50 l) que se preparó (7,9 kg de NaH_2PO_4 , 1,3 kg de Na_2HPO_4 y 143,6 kg de agua) se añadió a la fase orgánica y se agitó durante al menos 15 min. Se detuvo la agitación y se dejaron separar las fases durante al menos 15 min. La capa inferior se descartó. Otra porción de la solución tamponada (50 l) se usó para lavar la capa orgánica como se ha descrito anteriormente. El lavado se realizó una tercera vez tal como se ha descrito anteriormente.

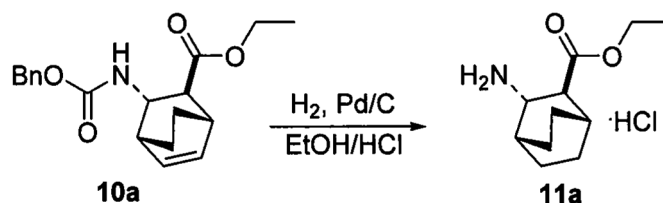
Se inició la destilación al vacío de la fase de PhMe (150 l) a $42^{\circ}\text{C}/-13,9$ psig (95,84 kPa) y se destiló hasta un aceite de aproximadamente 20 l de volumen. Después de una reducción sustancial en volumen la mezcla se transfirió a un recipiente inferior para completar la destilación. Se añadieron heptanos (13,7 kg) y la mezcla se calentó a $40 \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 30 min, después los contenidos se enfriaron a $0-5^{\circ}\text{C}$ durante 1,5 h. Los sólidos se filtraron y el reactor se lavó con aproximadamente 14 kg de heptanos enfriados ($0-5^{\circ}\text{C}$). Los sólidos se dejaron secar al vacío antes de colocarlos en el horno a $<40^{\circ}\text{C}$ al vacío hasta que el LOD fue de $<1\%$. 15,3 kg, 64 %, 96 % de pureza por HPLC. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,45 (s a, 1H), 6,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,25 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 4,18 (m, 2H), 3,27 (m, 1H), 3,03 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 1,68 (m, 1H), 1,49 (m, 1H), 1,25 (t, $J = 7,2$ Hz), 1,12 (m, 1H).

Preparación del compuesto 10a



Un matraz de tres bocas equipado con un agitador mecánico, sonda de temperatura, condensador de reflujo, embudo de adición y entrada de nitrógeno se cargó con el compuesto 9a (145,0 g, 1 equiv.) y tolueno anhidro (Aldrich, n.º de catálogo 244511) (1408 g, 1655 ml) en atmósfera de nitrógeno. Después se añadió trietilamina (Aldrich, n.º de catálogo 471283) (140 g, 193 ml, 2,14 equiv.) en porciones durante 5 minutos a la solución en agitación durante lo cual se observó una exotermia hasta una temperatura máxima de 27°C . Comenzó la adquisición de datos por ReactIR. Después, la mezcla de reacción se calentó a 95°C durante 70 minutos. Después se añadió difenilfosforil azida (Aldrich, n.º de catálogo 178756) (176,2 g; 138,0 ml, 0,99 equiv.) mediante un embudo de adición en porciones durante un tiempo total de 2,25 horas.

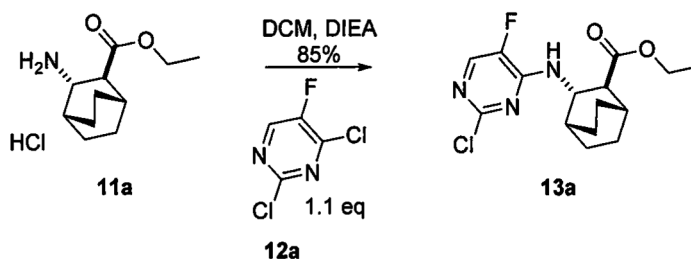
Después de completar la adición de difenilfosforil azida (el embudo de adición se enjuagó con una pequeña cantidad de tolueno), la mezcla resultante se calentó a 96°C durante otros 50 minutos. Una muestra de la mezcla de reacción diluida en tolueno se analizó por GC/MS lo que indicó que la difenilfosforil azida se había consumido. Después se añadió alcohol bencílico (Aldrich, n.º de catálogo 108006) (69,9 g, 67,0 ml, 1,0 equiv.) mediante el embudo de adición durante 5-10 minutos. Después se calentó la mezcla resultante a 97°C durante una noche (durante aproximadamente 19 horas). Una muestra de la mezcla de reacción se diluyó en tolueno, por GC/MS se indicó la formación de producto ($m/e = 330$). Después la mezcla de reacción se enfrió a 21°C , tras lo cual se añadió agua (870 g, 870 ml) en porciones (se observó una ligera exotermia hasta una temperatura máxima de 22°C). La mezcla de reacción se inactivó primero mediante la adición de 500 g de agua y se agitó mecánicamente durante 10 minutos. Después se transfirió la mezcla al embudo de decantación que contenía los restantes 370 g de agua y después se agitó manualmente. Después de la agitación y la separación de fases, las capas orgánica y acuosa se separaron (corte acuosa a pH de ~ 10). Después se lavó la capa orgánica con una porción adicional de agua (870 g; 1×870 ml). Las capas orgánica y acuosa se separaron (corte acuoso a pH de ~ 10). La fase orgánica recogida se concentró después a sequedad a presión reducida (baño de agua a $45-50^{\circ}\text{C}$) proporcionando 215 g del compuesto en bruto **10a** (volumen aproximadamente de 190 ml). La RMN ^1H y la GC/MS fueron conformes al compuesto **10a** (con tolueno residual y alcohol bencílico).

Preparación del compuesto 11a

5 a.) Preparación de HCl en etanol: Un matraz de tres bocas equipado con una sonda de temperatura, entrada de nitrógeno y agitador magnético se cargó con etanol (1000 ml, 773 g) en atmósfera de nitrógeno. La solución se agitó y se enfrió en un baño de hielo seco/acetona hasta que se alcanzó una temperatura interna de -12 °C. Después se burbujó lentamente HCl anhidro (~ 80 g, 2,19 moles) en la solución enfriada (temperatura observada de -24 a -6 °C durante la adición) durante 2 horas. Después de la adición, la solución se transfirió a una botella de cristal y se dejó calentar a temperatura ambiente. Una muestra de la solución se sometió a valoración dando una concentración de 2,6 M. La solución se almacenó después en la sala de frío (aproximadamente 5 °C) durante una noche.

10 b.) Hidrogenación/formación de sal de HCl: Un inserto de vidrio en un autoclave Parr de 2 galones se cargó con paladio sobre carbono (Pd/C (Aldrich, n.º de catálogo 330108), 10 % base seca; (50 % de humedad), 13,11 g, 0,01 equiv sobre la base del compuesto **10a**) en atmósfera de nitrógeno y después se humedeció con etanol (93 g; 120 ml). Después se añadió una solución del compuesto en bruto **10a** (212 g, 1 equiv.) en etanol (1246 g; 1600 ml) al inserto de cristal (enjuague pequeño con etanol para ayudar con la transferencia). El inserto de cristal se colocó en el autoclave tras lo cual se añadió HCl en etanol (preparado como se ha descrito anteriormente; 2,6 M; 1,04 equiv basado en el compuesto **10a**; 223 g; 259 ml). El autoclave se cerró herméticamente y después se purgó con hidrógeno (3 * a 20 psi (137,9 kPa)). La hidrogenación empezó después bajo una presión aplicada de gas hidrógeno (15 psi (103,42 kPa)) durante 3 horas, en cuyo tiempo la presión de hidrógeno parecía constante. El análisis de una alícuota de la mezcla de reacción por RMN ¹H y GC/MS indicó la consumición del material de partida y la formación de producto. La mezcla resultante se filtró después sobre un lecho de Celite (192 g) tras lo cual el lecho de Celite se lavó con más etanol (3 x; un total de 1176 g de etanol se usó durante los lavados). El filtrado (verde en color) se concentró después a presión reducida (baño de agua a 45 °C) hasta ~382 g ((~435 ml; 2,9 volúmenes basado en un rendimiento teórico del compuesto **11a**). Después se añadió al resto acetato de isopropilo (1539 g; 1813 ml (12 volúmenes basado en un rendimiento teórico del compuesto **11a**). La solución resultante se destiló al vacío con incremento gradual de la temperatura.

30 La destilación se detuvo tras lo cual la solución restante (370 g, ~365 ml volumen total; parda en color) se dejó en reposo a temperatura ambiente durante el fin de semana. La mezcla se filtró (se usó acetato de isopropilo para ayudar con la filtración) y los sólidos recogidos se lavaron con más acetato de isopropilo (2x116 ml; cada lavado fue de aproximadamente 100 g). El sólido después se secó al vacío a 40 °C (temperatura máxima observada de 42 °C) durante una noche para proporcionar 118 g (78,1 % en dos etapas) del compuesto **11a**. La RMN ¹H del material conforme a la estructura del compuesto **11a** y la GC/MS indicaron un 99 % de pureza.

Preparación del compuesto 13a

40 Procedimiento A: Una mezcla de 5-fluoro-2,4-dicloropirimidina (**12a**, 39,3 g, 235 mmol, 1,1 equiv.) y sal de HCl amina (**11a**, 50 g, 214 mmol) se trató con CH₂Cl₂ (169 ml) y la mezcla se calentó a 30 °C. La mezcla se trató después lentamente con DIEA (60,8 g, 82 ml, 471 mmol, 2,2 equiv.) mediante una bomba de jeringa durante 3 h. La temperatura máxima llegó hasta 32 °C. La reacción se agitó durante 20 h, se consideró que la mezcla de reacción se había completado por HPLC y se enfrió a ta. La mezcla de reacción resultante se lavó secuencialmente con agua (211 ml, pH = 8-9), NaHSO₄ al 5 % (211 ml, pH = 1-2), después NaCl ac. al 5 % (211 ml, pH = 5-6).

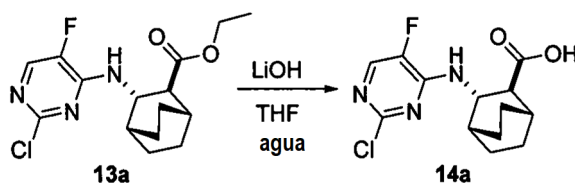
Después se destiló la fase orgánica a presión reducida hasta 190 ml. Se cargó PhMe (422 ml) y se ajustó la temperatura a 70-80 °C y la temperatura interna a 60-65 °C hasta que el volumen volvió a 190 ml. La mezcla se dejó

enfriar a aproximadamente 37 °C con agitación, después de aproximadamente 10 min, comenzó a aparecer cristalización y se observó que la temperatura aumentó a aproximadamente 41 °C. Después de equilibrarla a 37 °C, la suspensión se cargó con n-heptano (421 ml) durante 3,5 h seguido de enfriamiento a 22 °C durante 1 h. La mezcla se dejó en agitación durante una noche a esa temperatura antes de filtrarla. El sólido resultante sobre el filtro se lavó con una solución de PhMe al 10 % en n-heptano (2 x 210 ml). El sólido se secó después en el horno al vacío con una purga de N₂ a 50 °C durante una noche. El sólido resultante pesó 62 g (88 % de rendimiento).

Procedimiento B: Un matraz de tres bocas equipado con un agitador mecánico, sonda de temperatura, condensador de reflujo, entrada de nitrógeno y embudo de adición se cargó con el compuesto **11a** (51,2 g) y el compuesto **12a** (40,2 g) en atmósfera de nitrógeno. Se añadió diclorometano (173 ml, 230 g) y la mezcla resultante se agitó mientras se calentaba a una temperatura interna de 30 °C. Después se añadió N,N-diisopropiletilamina (85 ml, 63,09 g) lentamente mediante el embudo de adición durante 2,5-3 horas, tiempo durante el cual se observó una exotermia hasta una temperatura máxima observada de 33,5 °C. Después de que se completara la adición, la solución resultante se agitó a 30-31 °C durante una noche en atmósfera de nitrógeno (durante aproximadamente 19 horas).

Una muestra de 100 µl de la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano hasta un volumen total de 10 ml y la solución se mezcló bien. Una muestra de la alícuota diluida se analizó por GC/MS lo que indicó que la reacción se había completado por GC/MS; se observó formación del producto (m/e = 328). La mezcla de reacción se enfrió a 26 °C y se transfirió a un embudo de decantación (ayudada con diclorometano). Después se lavó la mezcla secuencialmente con agua (211 ml, 211 g; el pH del corte acuoso fue ~8; se transfirió una pequeña capa de emulsión con el corte acuoso), NaHSO₄ acuoso al 5 % ((preparado usando 50 g de bisulfato sódico monohidrato (Aldrich n.º de catálogo 233714) y 950 g agua) 211 ml, 216 g; el pH del corte acuoso fue ~2) y después NaCl acuoso al 5 % ((preparado usando 50 g de cloruro sódico (Aldrich n.º de catálogo S9888) y 950 g agua) 211 ml, 215 g; el pH del corte acuoso fue ~4-5). La fase orgánica recogida se concentró después a presión reducida (baño de agua a 35 °C) hasta ~190 ml (2,7 volúmenes basado en un rendimiento teórico del compuesto **13a**, tras lo cual se añadió tolueno (Aldrich n.º de catálogo 179418, 422 ml, 361 g). La mezcla resultante se concentró a presión reducida (baño de agua a 55-65 °C) hasta ~190 ml (2,7 volúmenes basado en un rendimiento teórico del compuesto **13a**). El análisis de una muestra de la solución en esta etapa por RMN ¹H indicó la ausencia de diclorometano. La mezcla restante se dejó enfriar a 37 °C (usando un baño de agua a 37 °C en un rotovap con agitación). Durante este tiempo se observó una cristalización pronunciada. Después la mezcla se agitó mecánicamente y se calentó a aproximadamente 37 °C (fuente externa de calor ajustada a 38 °C), tras lo cual se añadió lentamente n-heptano (430 ml, 288 g; Aldrich n.º de catálogo H2198) mediante un embudo de adición durante 3 horas. Después de la adición, se detuvo el calentamiento y la suspensión resultante se agitó mecánicamente mientras se enfriaba a temperatura ambiente durante una noche. Después la mezcla resultante se filtró y los sólidos recogidos se lavaron con tolueno al 10 % en n-heptano (2 x 210 ml; cada lavado se preparó mezclando 21 ml (16 g) de tolueno y 189 ml (132 g) de n-heptano). Se aplicó vacío hasta que se observó un filtrado muy pequeño. Después los sólidos volvieron a secarse al vacío a 50 °C en una purga de nitrógeno hasta un peso constante (3,5 horas) dando 64,7 g (90 %) del compuesto **13a**. El análisis de una muestra del sólido por RMN ¹H mostró que el material se ajustaba a la estructura y el análisis LC indicó un 99,8 % de pureza usando el método de LC suministrado.

Preparación del compuesto 14a

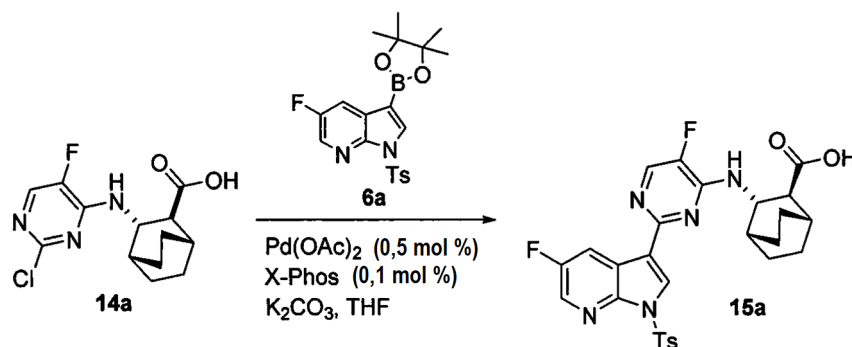


El éster etílico **13a** (85 g, 259 mmol) se disolvió en THF (340 ml) y se trató con una solución de LiOH (2 M, 389 ml, 778 mmol) durante 10 min (temperatura de 21 a 24 °C). La mezcla se calentó a 45 °C con agitación durante 17 h, tiempo al cual se consideró que la reacción se había completado por HPLC (no se observó SM). La mezcla de reacción se enfrió a ta y se añadió CH₂Cl₂ (425 ml). Después se añadió una solución de ácido cítrico (2 M, 400 ml) lentamente durante 45 min (la temperatura se elevó a 26 °C). Se observó que durante la carga se formaron algunos sólidos de color blanco pero se disolvieron rápidamente con la agitación. La mezcla de reacción se agitó durante otros 15 min antes de dejar que las fases se separaran. Después de que las fases se separaran, el pH de la fase acuosa se midió pH = 4,0. La fase orgánica se lavó (15 min en agitación) con agua (255 ml) y se dejó que las fases se separaran. La capa inferior (orgánica) que contenía el producto deseado se guardó en el frigorífico durante una noche.

La fase orgánica se concentró a presión reducida (recipiente ajustado a 65 °C) hasta aproximadamente 150 ml (est. 1,76 vol respecto de SM). Se cargó IPA (510 ml) y se destiló a presión reducida (ajuste de temperatura del enfriador a 85 °C) hasta 255 ml (3 vol). El nivel de disolvente se llevó hasta aproximadamente 553 ml (6,5 vol) mediante la adición de IPA (298 ml). Después se añadió agua (16 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo (77 °C) con

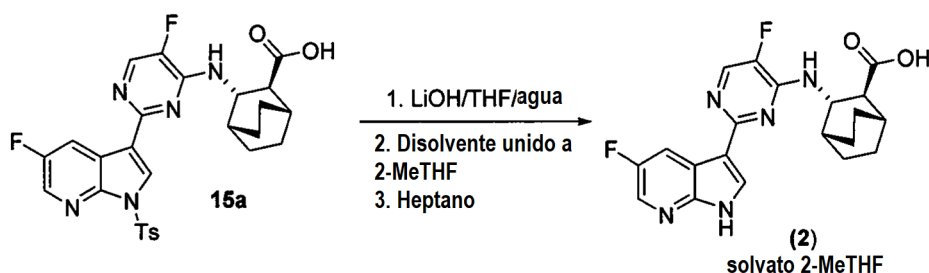
buena agitación que disolvió los sólidos precipitados en las paredes del recipiente. La mezcla de reacción se enfrió después lentamente hasta 65 °C (durante 60 min) y se mantuvo ahí- todo el material permanecía en la solución (una muestra se extrajo para el análisis de disolvente residual). La reacción se volvió a enfriar a 60 °C y la mezcla de reacción parecía ligeramente opaca. Después de agitar durante 15 min se volvió a enfriar a 55 °C. Mientras precipita más producto, la mezcla es aún ligera y se agita con facilidad. Se añadió agua (808 ml) muy lentamente (2,5-3 h) mientras se mantenía la temperatura alrededor de 55 °C. Después, la mezcla se enfrió a 22 °C durante 2 h y se dejó en agitación durante una noche. Después se filtró el material y se lavó con una mezcla de agua: IPA (75:25,2 x 255 ml). El ácido se secó en un horno de vacío a 55 °C durante una noche. Se obtuvieron 69 g del ácido **14a**, 88 % de rendimiento de un sólido de color blanco. El material analizado tenía >99 % de pureza según HPLC.

Preparación del compuesto 15a: Acoplamiento de Suzuki

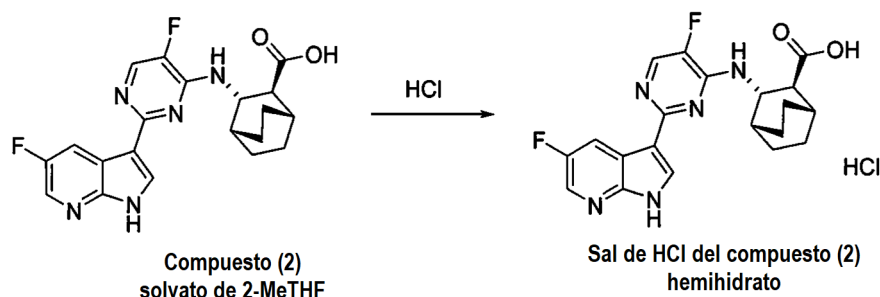


A **14a** (91,4 g, 305 mmol), **6a** (158,6 g, 381 mmol, 1,25 equiv.), Pd(OAc)₂ (0,34 g, 1,5 mmol, 0,5 mol %), X-Phos (1,45 g, 3,0 mmol, 1,0 mol %) y K₂CO₃ (168,6 g, 1220 mmol, 4 equiv.) se le añadió THF (731 ml, 8 volúmenes) y agua (29 ml, 0,32 vol). La mezcla de reacción se roció con N₂ durante 30 min, después se calentó a 65-70 °C y se agitó durante 5 h. El análisis HPLC de la mezcla de reacción mostró un 99,3 % de conversión. La mezcla de reacción se enfrió a 22-25 °C y se añadió agua. La mezcla se agitó, se dejaron separar las fases y la fase acuosa se decantó. Se añadió una solución de NaCl en agua al 18 % en peso (NaCl acuoso semisaturado) a la fase orgánica y el pH de la mezcla se ajustó a 6,0-6,5 usando HCl 2 N. Se dejaron separar las fases y la fase acuosa se decantó. La fase orgánica se concentró a un volumen mínimo y se añadió acetonitrilo. El proceso se repitió una vez más y se añadió acetonitrilo se añadió para alcanzar el volumen final de 910 ml (10 vol). La suspensión se calentó a 80-85 °C durante 6 h, después se enfrió a 20-25 °C. La suspensión se agitó durante 2 h, después se filtró. Los sólidos se enjuagaron con acetonitrilo para dar **15a** (161 g, 89 % de rendimiento).

Preparación del compuesto (2): Etapa de detosilación

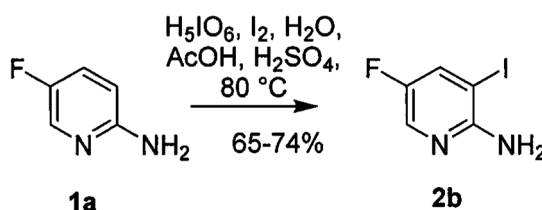


A **15a** (25 g, 45,2 mmol) se le añadió THF (125 ml, 5 vol), después resina de MP-TMT (6,25 g, 25 % en peso). La mezcla se agitó a 20-25 °C durante 16 h y se filtró, aclarando con 1 vol de THF. El proceso de tratamiento con resina y la filtración se repitieron. La solución de THF se concentró a 5 vol. A la mezcla a 22-25 °C se le añadió una solución acuosa de LiOH 2 M (90,3 ml, 4 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a 40-45 °C y se agitó durante 5 h. El análisis por HPLC mostró un 99,7 % de conversión. La mezcla de reacción se enfrió a 22-25 °C y se añadió MTBE (50 ml, 2 vol). Se produjo la fase de separación. La fase acuosa inferior se recogió. La fase acuosa se extrajo con MTBE. La fase acuosa inferior se recogió. A la fase acuosa se le añadió 2-MeTHF y la mezcla se agitó. El pH de la mezcla se ajustó a 6,0-6,5 y la fase ac. inferior se decantó. La fase orgánica se lavó con tampón de pH 6,5. La fase orgánica se concentró a 85 ml, se diluyó con 2-MeTHF (150 ml) y se concentró a un volumen final de 180 ml. La suspensión resultante se calentó a 70-75 °C y se agitó hasta su completa disolución, después se enfrió a 45-50 °C para dar una suspensión. La suspensión se agitó durante 1 h, después se añadió heptano (180 ml). La suspensión se enfrió a 20-25 °C durante 1 h y se agitó durante 16 h. El lote se filtró, aclarando los sólidos con heptano. Los sólidos se secaron para dar el solvato del compuesto (2)-2-MeTHF en bruto, rendimiento del 79 %.

Preparación de sal de HCl hemihidrato del compuesto (2): Formación de la sal

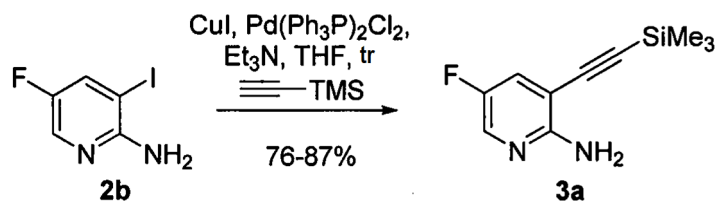
5 **Procedimiento A:** El compuesto (2)-2-MeTHF (953 g, 2,39 mol) se puso en un reactor de 30 l con camisa y se trató con IPA (15 l) y agua (0,57 l). Se puso en funcionamiento el agitador y la mezcla de reacción se calentó a 73 °C para convertir todo en una solución, después se enfrió a 50-55 °C. A 50-55 °C la mezcla de reacción se trató con HCl en IPA recién preparado (0,83 M, 4,34 l) mediante adición lenta durante 4 h. La reacción se muestreó, para verificar la forma correcta por XRPD. Después de la adición, el enfriador se programó para descender a 0 °C durante 480 min con agitación. Después de la confirmación de la forma por análisis XRPD, la suspensión se filtró en dos filtros. El reactor se lavó con 3 l de IPA y cada torta de filtró se lavó con ~1,5 l de IPA del producto de enjuague IPA del reactor. Las tortas se dejaron secar al aire con succión durante una noche. Las tortas se colocaron después en un secador de bandeja sin calentamiento al vacío con purga de N₂ (22 inHg(74,5 kPa) durante 24 h. El análisis del agua y el disolvente residual mostraron 505 ppm de IPA, 8 ppm de 2-Me-THF y aproximadamente H₂O al 2,15 %. El material se sacó del horno y se molió conjuntamente para desaglomerarlo proporcionando 805 g de la sal de HCl del compuesto (2)·1/2 H₂O.

Procedimiento B: Como alternativa, se usó acetona en lugar de IPA, pero de una manera similar a como se ha descrito anteriormente en el procedimiento A para formar la sal de HCl del compuesto (2)·1/2 H₂O.

Ejemplo 2: Preparaciones alternativas de ciertos compuestos y condiciones de reacción de SuzukiA. Preparación del compuesto 3a del ejemplo 1**Etapas 1: 5-fluoro-3-yodopiridin-2-amina (2b)**

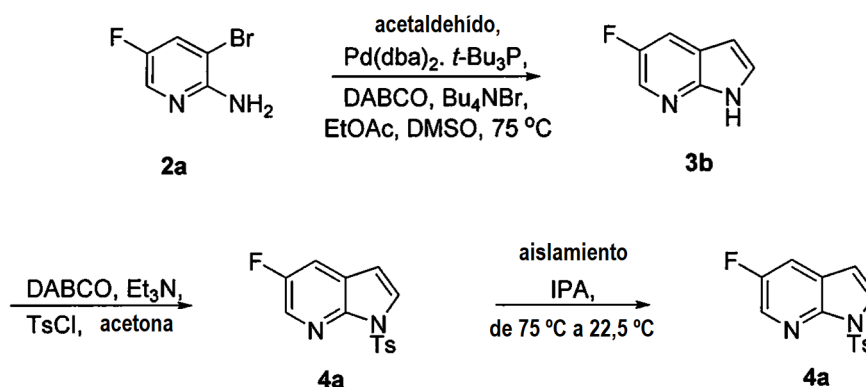
Se añadió H₂SO₄ (120 ml), gota a gota, a una solución de 2-amino-5-fluoropiridina (1 kg, 8,9 mol) en AcOH (4 l) y H₂O (1 l) durante 5 minutos. Se añadieron ácido peryódico (H₅IO₆; 450 g, 1,97 mol, 0,22 equiv.) e I₂ (1 kg, 3,94 mol, 0,44 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a 82 °C (internos) durante una noche. Una muestra (diluida con H₂O, alcalinizada con NaOH al 30 %, extraída con EtOAc, conc.) mostró un 13-15 % de material de partida. Se añadieron más H₅IO₆ (80 g) e I₂ (180 g) y la agitación continuó a 80 °C durante una noche. Se eliminó el calentamiento externo y la mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y agua (8 l), se alcalinizó con NaOH ac. al 33 % (se necesitaron ~6,5 l) y se agitó durante 2 h. El producto precipitado se recogió por filtración y se lavó con H₂O caliente (8 x 3 l). El lavado del filtro se dejó reposar durante una noche tras lo cual el producto se lavó con heptanos (3 x). El producto se secó en el horno a 45 °C durante el fin de semana. El compuesto **2b** (1390 g, 65 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. Se añadió H₂O a la capa de heptanos y esta se dejó reposar durante el fin de semana. La capa acuosa oscura se separó de la capa orgánica de color amarillo claro, que se concentró a sequedad. Así se obtuvo más compuesto **2b** (95 g, 70 % de rendimiento total) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 300 MHz): δ 7,95-7,88 (m, 2H) ppm. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,95-7,90 (m, 1H); 7,68-7,62 (m, 1H); 4,85 (s, NH₂) ppm.

Etapas 2: 5-fluoro-3-((trimetilsilil)etil)piridin-2-amina (3a)

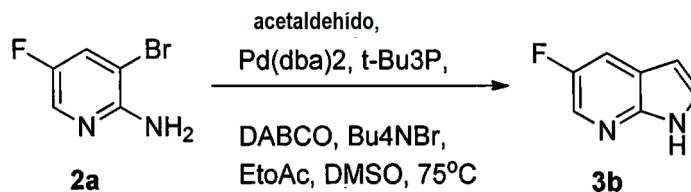


Una solución del compuesto **2b** (790 g, 3,3 mol) en THF (2,9 l) se desgasificó (3 x), usando ciclos de $\text{N}_2(\text{g})$ / vacío. Se inició el purgado con N_2 (g) seguido de la adición de CuI (6,32 g, 0,01 equiv.), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (23,4 g, 0,01 equiv.) y Et_3N (1,4 l, 3 equiv.). El purgado continuó durante 10 minutos y la mezcla de reacción se desgasificó una vez, seguido de la adición gota a gota de trimetilsililacetileno (605 ml, 1,3 equiv.) durante 40-45 minutos. Durante la adición la reacción exotérmica no se inició por sí misma y la reacción se calentó a $\sim 45^\circ\text{C}$. Se retiró el calentamiento externo. La reacción exotérmica comenzó en este momento y la temperatura alcanzó $\sim 66^\circ\text{C}$ (40 minutos después la adición había finalizado). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 2 h después de lo cual la temperatura bajó a 26°C . Una muestra (filtrada sobre Celite, conc.) mostró conversión completa y la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (3 l). La solución se filtró sobre sílice (2 kg), eluyendo con EtOAc (9 l total). Los disolventes se eliminaron a presión reducida para dar el compuesto **3a** (642 g, 93 % de rendimiento) en forma de un aceite oscuro. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,90 (s, 1H); 7,33-7,27 (m, 1H); 4,92 (s, NH_2), 0,28 (s, 9H) ppm.

B. Preparación del compuesto 4a del ejemplo 1

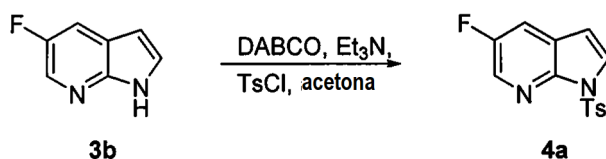


Etapa 1: 5-fluoro-1H-pirrol[2,3-b]piridina (**3b**)



A un matraz de presión de 500 ml purgado con nitrógeno se le cargó 3-bromo-5-fluoropiridin-2-amina (compuesto **2a**) (20 g, 104,7 mmol, 1 equiv.), DABCO (17,6 g, 157,0 mmol, 1,5 equiv.) y bromuro de tetrabutilamonio (3,38 g, 10,5 mmol, 0,1 equiv.). El matraz se cargó con dimetilsulfóxido (anhidro, 40 ml) y acetato de etilo (anhidro, 120 ml) y la mezcla resultante se roció con nitrógeno durante 30 min. Se cargaron bis(dibencilidenoacetona) paladio (0) (3,01 g, 5,24 mmol, 0,05 equiv.), una solución al 10 % p/p de tri-*tert*-butilfosfina en hexano (21,2 g, 10,47 mmol, 0,1 equiv.) y acetaldehído (5,08 g, 115,2 mmol, 1,1 equiv.) y el matraz se cerró herméticamente. La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, después se calentó en un baño de aceite a $76,5^\circ\text{C}$ durante 5 h. El lote se enfrió y se muestreó para análisis HPLC. Después de observar la compleción de la conversión al compuesto **3b** (normalmente el 100 % de conversión después de 5 h), el lote se inactivó con agua (40 ml). La fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo (40 ml) y los extractos orgánicos combinados se filtraron a través de una capa de celite para eliminar los sólidos finos. El celite se aclaró con acetato de etilo (40 ml) y la solución resultante del producto en bruto se cargó con Na_2CO_3 al 5 % (60 ml) y se roció con nitrógeno durante 30 min mientras se mezclaba. La fase orgánica resultante se lavó con agua (60 ml) y se concentró a $< 30^\circ\text{C}$ hasta 43 ml. El rendimiento de la solución fue de 13,1 g (92 %) a partir de 3-bromo-5-fluoropiridin-2-amina basada en los patrones de HPLC.

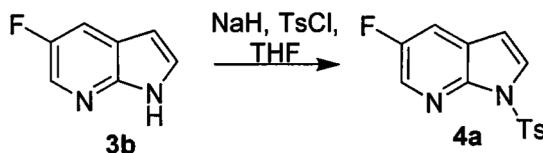
Etapa 2: 5-fluoro-1-tosil-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (4a)



- 5 A la solución del compuesto en bruto **3b** (se asumen 14,26 g (100 % de la etapa 1), 1 equiv.) en acetato de etilo de la etapa 1 se le cargó acetona (71,2 ml), DABCO (5,8 g, 52,35 mmol, 0,5 equiv.) y trietilamina (29,4 ml, 209,4 mmol, 2 equiv.) y el matraz de reacción se purgó con nitrógeno. En un matraz independiente, se preparó una solución de cloruro de tosilo (29,9 g, 157,0 mmol, 1,5 equiv.) en acetona (35,6 ml). La solución de cloruro de tosilo se añadió a la solución del compuesto **3b** durante 30 min a temperatura ambiente. La reacción se analizó por HPLC para el % de conversión después de 4 h. Cuando la ABC era < 0,2 %, el compuesto **3b** permaneció (normalmente tras 4 h), la reacción se interrumpió con agua (10 ml), se agitó durante 30 min y se cargó con HCl (80 ml) y diclorometano (144 ml). El lote se agitó durante 30 min. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (43 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl al 5 % (72 ml). El rendimiento de la solución del compuesto **4a** para esta etapa fue de 27,0 g (97 %) basado en los patrones de HPLC.

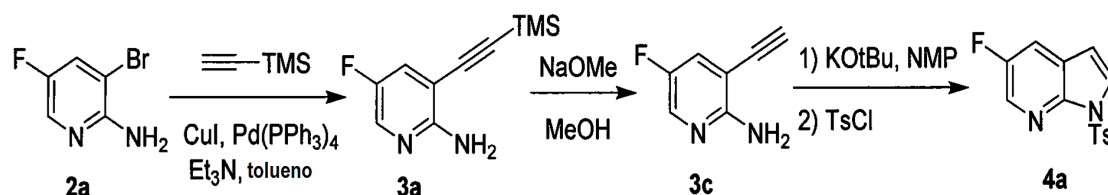
Etapa 3: Aislamiento de 5-fluoro-1-tosil-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (4a)

- La solución del compuesto en bruto **4a** de la etapa 2 se concentró al vacío hasta 57 ml, se cargó con 2-propanol (184 ml) y se concentró hasta 120,8 ml. La mezcla resultante se calentó a 83,6 °C. Después de agitar a esta temperatura durante 1 h, la mezcla se enfrió a 22,5 °C durante 2 h y se mantuvo a esa temperatura durante 20 h. La suspensión se filtró después y el reactor y el sólido recogido se lavaron con 25/75 de agua/2-propanol (2 x 80 ml). El material se secó al vacío con un barrido de nitrógeno a 56 °C durante 7 h. El compuesto **4a** se aisló en un 81 % de rendimiento (24,5 g) a partir de 3-bromo-5-fluoropiridin-2-amina (3 etapas incluyendo aislamiento) y la pureza en la ABC fue del 98,4 %. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,28-8,27 (m, 1H); 8,06-8,02 (m, 2H); 7,77 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 7,54-7,50 (m, 1H); 7,28-7,26 (m, 2H); 6,56 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 2,37 (s, 3H) ppm.

C. Preparación del compuesto 4a del ejemplo 1

- 30 **Método A:** El compuesto **3b** (280 g, 2 mol) se disolvió en THF (6 l) y la solución se enfrió a <10 °C en un baño de hielo. Se añadió una dispersión de NaH al 60 % (95 g, 57 g de NaH, 1,15 equiv.) en aceite mineral, en porciones, durante 30 minutos. La temperatura se mantuvo entre 5-10 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 40 minutos. Se añadió una solución de sulfonilcloruro de *para*-tolueno (408 g, 1,04 equiv.) en THF (2,5 l de solución total), gota a gota, durante 40 minutos. Se retiró el enfriamiento externo y la mezcla de reacción se agitó durante 70 minutos, tiempo al cual la temperatura alcanzó 8 °C. El análisis por RMN de una muestra (diluida con EtOAc, lavada con NaHCO₃ sat. y concentrada) mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ ac. sat. (2 l) y se diluyó con EtOAc (8 l). Las capas se separaron y la capa orgánica se dividió en 2 lotes. Cada lote se lavó con NaHCO₃ ac. sat. (2 x 1,5 l) y salmuera (2x1 l). Los lotes se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄ y se filtraron sobre sílice (2 kg), eluyendo con EtOAc (~10 l en total). Los disolventes (~28 l) se eliminaron a presión reducida y el sólido resultante (628 g) se transfirió a un filtro y se lavó con heptanos (2 x). Nota: el primer lavado con heptanos tenía un color rojo anaranjado y el segundo era casi incoloro. Después de secarse, se obtuvo el compuesto puro **4a** (566 g, 94,6 % de rendimiento) en forma de un sólido de color pardo claro. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,28-8,27 (m, 1H); 8,06-8,02 (m, 2H); 7,77 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 7,54-7,50 (m, 1H); 7,28-7,26 (m, 2H); 6,56 (d, J= 4,0 Hz, 1H); 2,37 (s, 3H) ppm.

Método B:



5 Etapa 1: Preparación del compuesto 3c

A un reactor inerte de 400 l que contenía una solución en tolueno del compuesto **2a** (185 l, ~33,5 kg, 175 mol) se le cargó Pd(PPh₃)₄ (1215 g, 1,05 mol) y CuI (200 g, 1,05 mol). La mezcla se desoxigenó con dos ciclos de vacío-nitrógeno, después se añadió trietilamina (23 kg, 227 mol). La mezcla se desoxigenó con uno o más ciclos de vacío-nitrógeno, después se añadió TMS-acetileno (19 kg, 193 mol). La mezcla se calentó a 50 °C durante 22 horas, después a 54 °C durante otras 9 horas y se enfrió a 25 °C durante una noche. Se añadió metóxido sódico en metanol al 25 % en peso (41,6 kg, 193 mol) en una porción y la mezcla se agitó a 25 °C durante 40 minutos. La mezcla se enfrió a 20 °C, después se añadió ácido acético (2 l, 35 mol) en una porción y se agitó durante 1 hora. La suspensión se filtró a través de una capa de Celite, se lavó con tolueno (30 kg) y el filtrado se retuvo para aislar el producto. Un segundo proceso a partir de ~29,8 kg de una solución de tolueno del compuesto **2a** (156 mol) se llevó a cabo de manera similar.

Los filtrados de ambos procesos se concentraron hasta ~220 l de volumen (para evaporar el metanol) y se diluyeron hasta ~290 l con tolueno fresco. Esta solución se filtró a través de una capa de magnesol (20 kg), lavando con MTBE (240 l). El filtrado se evaporó hasta una suspensión espesa (~75 l de volumen), después se añadió hexano (65 kg) a ~35 °C. La suspensión se enfrió a 20 °C. Cuando se intentó la filtración, los sólidos no saldrían del reactor aunque el líquido salió fácilmente. Después de drenar el líquido, los sólidos del tanque se lavaron con hexano (93 kg). De nuevo los sólidos permanecieron en el tanque y el lavado salió. Los sólidos se secaron en el tanque con vacío (~95 % puro, 249 mol, 75 % de rendimiento).

El filtrado se concentró y el residuo se repartió entre DCM (25 l) y HCl 2 M (30 l). La capa acuosa superior se lavó con DCM (5 l). Las capas orgánicas se volvieron a extraer secuencialmente con HCl 2 M (6 l). Las capas acuosas se agitaron con DCM (25 l) y el pH se ajustó a ~8 mediante la adición de K₃PO₄ (1 kg), después NaOH 8 M (8,3 l). Las capas se separaron (producto en las orgánicas) y la acuosa se volvió a extraer con DCM (5 l). Las capas orgánicas se filtraron a través de un lecho de magnesol (3 kg), lavando con DCM (7 l). El filtrado se concentró a sequedad, se trituró con hexano (4 l) a 45 °C, se enfrió a 20 °C, se filtró y se lavó con hexano para proporcionar etapa 2 adicional (8,25 kg, ~95 % pura, 58 mol, 17 %) en forma de un sólido de color pardo anaranjado.

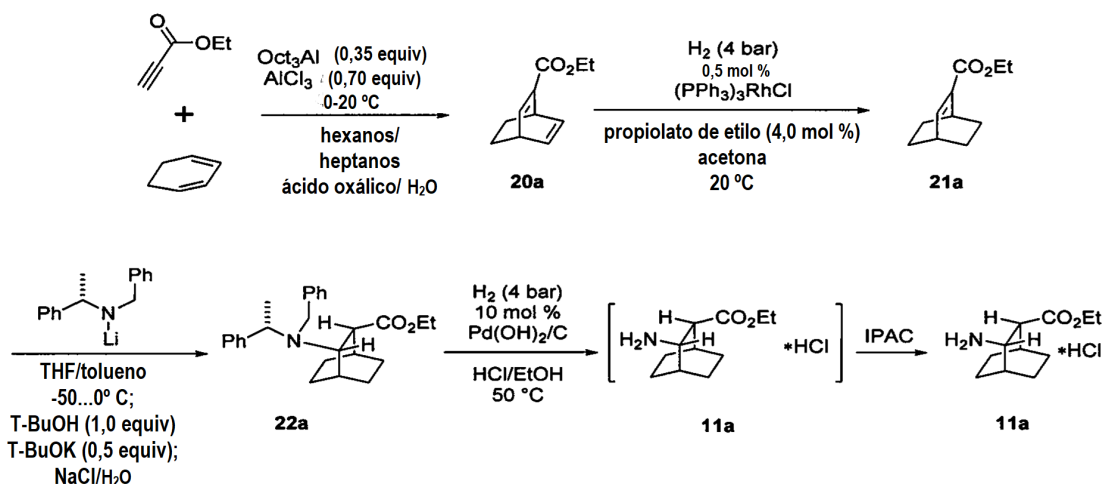
Etapa 2: Preparación del compuesto **4a**

A un reactor inerte de 400 l se le cargó NMP (80 kg) y t-butoxido potásico (40 kg, 357 mol). La mezcla se calentó a 59 °C, después se añadió una solución de la etapa 2 (44 kg, ~95 % pura, 307 mol) en NMP (80 kg) durante 2 horas y se aclaró con NMP (10 kg) (exotérmica, mantenida a 70-83 °C). La reacción se agitó a 75 °C durante 1 hora. Una muestra inactivada en DCM/NaHCO₃ no mostró material de partida restante mediante RMN. Una muestra inactivada con exceso de TsCl después procesada con DCM/NaHCO₃ mostró ~4 % de N-H restante. La mezcla se enfrió a 48 °C y se añadió más t-butoxido potásico (2 kg, 18 mol). La mezcla se volvió a enfriar a 37 °C y se añadió una solución de cloruro de tosilo (62 kg, 326 mol) en NMP (60 kg) durante 1,5 horas y se aclaró con NMP (4 kg) (exotérmica, mantenida a 30-45 °C). La reacción se agitó durante 1 hora mientras se enfriaba a 20 °C.

Una muestra inactivada con DCM/NaHCO₃ mostró ~9 % de N-H restante. Se añadió más cloruro de tosilo (3 kg, 16 mol) y la mezcla se agitó a 20 °C durante una noche, después se transfirió a un reactor inerte de 800 l, se aclaró con NMP (10 kg). Se añadió agua a 5 °C (500 l) durante 2,5 horas (exotérmica, mantenida a 17-23 °C). La mezcla se agitó a 17 °C durante 30 minutos. Cuando se intentó la filtración, la mezcla no saldría del reactor. Después de permitir que se asentara, el líquido fue aspirado de la parte superior (a través del filtro). Los sólidos en el tanque se empaparon con agua (100 l, no se agitaría), después el líquido se aspiró de la parte superior de nuevo. Este lavado se repitió con otros 100 l (dejándolo reposar durante una noche) y después 200 l de agua (dejándolo reposar durante 7 horas). El reactor se puso en marcha con una purga lenta de nitrógeno a través de los sólidos y fuera de la válvula inferior (a través del filtro) durante el fin de semana. Los sólidos resultantes se disolvieron en DCM (400 kg) y se separaron del agua residual. Los extractos acuosos se volvieron a extraer con DCM (50 kg). Los extractos orgánicos combinados se destilaron para eliminar ~30 l de disolvente (y un azeótropo de agua residual) y después se filtraron a través de un lecho de magnesol (30 kg) y después un lecho de sílice (50 kg), lavando con más DCM (~600 kg). El filtrado se concentró hasta una suspensión espesa (~110 l de volumen), después se añadió MTBE (65 kg) en porciones mientras continuaba la destilación a una temperatura final de vapor de 50 °C (volumen final 145 l). La

suspensión se enfrió a 15 °C, se filtró y se lavó con MTBE (65 kg) para proporcionar el producto (43,46 kg, 150 mol, 49 %) en forma de un sólido de color naranja pálido. La concentración parcial del filtrado proporcionó un segundo cultivo (2,65 kg, ~93 % de pureza, 8,5 mol, 3 %). Este filtrado se concentró a sequedad, después se repartió entre DCM (60 l) y NaOH 2,2 M (35 l). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 30 l), después salmuera (20 l) y se filtró a través de una capa de sílice (35 kg), eluyendo con DCM. El filtrado se concentró y el residuo se trituró con MTBE (20 l) y se filtró para proporcionar un tercer cultivo (3,72 kg, 12,8 mol, 4 %).

D. Preparación del compuesto 11a del ejemplo 1



Preparación del compuesto 20a: Reacción de Diels-Alder

Se cargó AlCl₃ (380,6 g, 2,85 mol, 0,7 equiv.) al reactor de drenaje inferior Chemglass de 10 l con camisa con un barrido de N₂ seguido de heptano (1,6 l, 4 vol). La mezcla se enfrió a 0 °C. Se añadió trioctilaluminio (2,99 l, 1,43 mol, 0,35 equiv, 25 % en peso en hexanos) mediante el embudo de adición durante 40 min. La suspensión de color verde claro se dejó en agitación durante 1 h. Se añadió propiolato de etilo (400 g, 413 ml, 1,0 equiv.) durante 1 h. La temperatura al final de la adición era de 6,0 °C. Se añadió 1,3-ciclohexadieno (425 g, 494 ml, 1,3 equiv.) durante 3 h. La reacción se dejó en agitación durante 16 h. La reacción pareció cambiar de una suspensión ligera de color naranja a una solución homogénea de color naranja. La reacción se enfrió a 0 °C. Se colocó una solución al 9 % de ácido oxálico en agua en un reactor con camisa de drenaje inferior Chemglass de 30 l en atmósfera de N₂ y se enfrió a 0 °C. La mezcla de reacción se transfirió del reactor de 10 l al reactor de inactivación de 30 l en porciones durante 1 h. El reactor de 10 l se aclaró con heptano (800 ml, 2 vol) y el aclarado se transfirió al reactor de inactivación de 30 l. La mezcla de reacción inactivada se calentó a 22,5 °C mientras se agitaba. Se detuvo la agitación y se dejó que se separaran las fases. La fase acuosa inferior se drenó. Se cargó agua (800 ml, 2 vol) en el reactor de inactivación de 30 l y la mezcla se agitó durante 30 min. Se detuvo la agitación y se dejaron separar las fases. La fase acuosa inferior se drenó y la fase orgánica superior se concentró en el evaporador giratorio (la temperatura del baño era de 40-50 °C) junto con la solución producida en otro lote en condiciones y escala idénticas. El peso del material concentrado fue de 1771 g y se encontró que contenía un 83 % del producto (el resto era octano residual). El rendimiento calculado al 101 %. La pureza por HPLC era del 99,39 % de la ABC. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,27 (dd, J= 6,5, 1,8 Hz, 1H), 6,37 (ddd, J= 7,5, 6,2, 1,5 Hz, 1H), 6,26 (ddd, J= 7,3, 5,9, 1,5 Hz, 1H), 4,23 - 4,13 (m, 3H), 3,78 - 3,70 (m, 1H), 1,40 - 1,19 (m, 7H).

Preparación del compuesto 21a

Se añadió catalizador de Wilkinson Rh(PPh₃)₃Cl (22,97 g, 25 mmol, 0,005 equiv.) al compuesto en bruto 20a (1068 g, 83 % en peso, 4,97 mol, 1 equiv.). La suspensión se transfirió a un hidrogenador Buchi de 3 l con la temperatura de la camisa ajustada a 20 °C. La botella que contenía el material de partida se aclaró con acetona (885 ml, 1 vol) y se transfirió al hidrogenador. Se añadió propiolato de etilo (19,49 g, 20,2 ml, 200 mmol, 0,04 equiv.). La reacción se agitó a 4 bar (400 kPa) de gas de hidrógeno a 20 °C durante 17 h. En la ABC se observó una conversión del 99,6 % al compuesto deseado 21a. Se procesaron 697 g del compuesto en bruto 20a en las mismas condiciones y se consiguió una conversión virtualmente idéntica. Ambas soluciones en bruto del compuesto 21a se concentraron en un rotovap con una temperatura de baño de 40-50 °C. Se obtuvieron 1913 g de producto en bruto. El ensayo de p/p con un patrón purificado condujo al cálculo del contenido activo de 70,9 %: 1357 g del producto activo, 92 % de rendimiento durante las dos etapas. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,34 (dd, J= 6,9, 1,7 Hz, 1H), 4,20 (c, J= 7,1 Hz, 2H), 3,17 (m, 1H), 2,69-2,73 (m, 1H), 1,54-1,60 (m, 4H), 1,31 (t, J= 7,1 Hz, 3H), 1,23-1,27 (m, 4H).

Preparación del compuesto 22a

Se cargó S-(-)-N-bencil- α -metilbencilamina (585 g, 579 ml, 2,77 mol, 1,1 equiv.) al matraz de fondo redondo de 22 l seguido de THF anhidro (5,1 L, 11 vol). Se inició la agitación y el matraz se enfrió con un baño de hielo seco/acetona a 0 °C. Se añadió n-BuLi (1,1 l, 2,77 mol, 1,1 equiv., 2,5 M en hexanos) durante 50 min. La reacción se agitó durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió a -42,2 °C en un baño de hielo seco/acetona durante 10 min. Se añadió el compuesto (R) (640 g, 70,9 % en peso, 454 g activos, 2,52 mol, 1,0 equiv.) en tolueno (640 ml, 1,4 vol) durante 30 min manteniendo la temperatura interna de -45 a -40 °C. La reacción se agitó durante 1 h. Se añadió una solución de t-BuOH (186 g, 240 ml, 2,52 mol, 1,0 equiv.) en THF anhidro (95 ml, 0,2 vol) durante 20 min seguido de a. Se añadió una solución de t-BuOK (1,26 l, 1,26 mol, 0,5 equiv, 1,0 M en THF) durante 20 min. manteniendo la temperatura interna de -45 a -40 °C durante todo el proceso. La reacción se llevó a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 18 h. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de cloruro sódico (160 g) en agua (3,0 l). La mezcla se calentó a 20 °C y se dejó que se separaran las fases. La capa acuosa inferior se drenó. Se cargó agua (3 l) en el reactor durante la agitación. La temperatura se elevó de 21 °C a 26 °C. La mezcla se agitó durante 30 min, después se detuvo la agitación y se dejaron reposar las fases durante 30 min. La fase orgánica se recogió. La solución preparada en este lote se rotó en un rotavapor junto con las soluciones de otros dos lotes anteriores que se llevaron a cabo en las mismas condiciones y escala similar. El peso total del producto en bruto (aceite de color amarillo) fue de 3630 g. El material se llevó a la etapa siguiente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,49 - 7,41 (m, 2H), 7,41 - 7,14 (m, 8H), 4,27 - 4,18 (m, 1H), 4,09 - 3,93 (m, 2H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,48 (m, 2H), 2,52 - 2,45 (m, 1H), 2,08 - 1,95 (m, 2H), 1,76 (m, 1H), 1,70 - 1,21 (m, 7H), 1,44 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,19 (c, J = 7,2 Hz, 3H).

Preparación del compuesto 11a

Catalizador de Pearlman (Pd(OH)₂/C, 20 % en peso en soporte, 50 % de agua, 500 g totales, 50 g activos, 0,36 mol, 0,095 equiv.) se cargaron al hidrogenador de Buchi de 20 l con la temperatura de la camisa ajustada a 20 °C. Se añadió el compuesto **22a** (1815 g peso actual, 1468 g presunto activo, 3,75 mol, 1,0 equiv.) seguido de EtOH (7,5 l, 5,1 vol basado en la carga activa supuesta). Se añadió HCl conc. (37,7 % en peso en agua, 305 ml, 363 g, 137 g activos, 3,75 mol, 1,0 equiv.) durante 20 min. El pH de la reacción se midió con un papel de pH y se registró en 1. La reacción se hidrogenó a 1 bar (100 kPa) de H₂ y se calentó a 50 °C. Una vez se habían alcanzado los 50 °C el reactor se volvió a purificar con H₂ a 4 bar (400 kPa). La reacción se mantuvo en las condiciones indicadas anteriormente durante 96 h. El catalizador se eliminó por filtración sobre celite, el hidrogenador se aclaró con EtOH (2 l) y el aclarado se usó para aclarar la capa de celite también y se combinó con el filtrado principal. La solución etanólica del producto en bruto, compuesto **11a**, se concentró en un rotavapor junto con el lote anterior que se preparó en esencialmente las mismas condiciones e idéntica escala. Se produjo una pasta espesa. Se añadió acetato de iso-propilo (2 l) a la cubeta del rotavapor que contenía el producto de la etapa anterior. Después se hizo girar la cubeta a presión atmosférica de N₂ durante 30 min para suspender el sólido. El disolvente se eliminó por destilación al vacío. Se añadió otra porción de acetato de iso-propilo (2 l) y la cubeta se hizo girar a presión atmosférica de N₂ para suspender el sólido. La suspensión se transfirió a un reactor Chemglass de 30 l con camisa. La cubeta se aclaró con acetato de iso-propilo (2 l) y el aclarado se añadió al reactor. Se añadió acetato de iso-propilo (12 l, total de 16 l, 5,5 vol basado en el compuesto activo supuesto **11a**). La suspensión de color amarillo se agitó durante 20 h a la temperatura ambiente de 24,4 °C. La suspensión se filtró sobre un filtró de porcelana con un filtro de papel. El reactor se aclaró con acetato de iso-propilo (4 l) y el aclarado se usó para aclarar la torta de filtro. Se obtuvo una torta de filtro densa de color blanco. Esta se dejó permanecer bajo la presión del vacío durante varias horas. La torta se secó en un horno de vacío a 40 °C con una purga N₂ durante 20 h. La cantidad del producto obtenido fue de 924 g (3,95 mol, 48 % de rendimiento a partir de propiolato de etilo). La pureza (GC) fue de 98,31 % en la ABC. RMN ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ 4,28 - 4,14 (m, 2H), 3,87 - 3,79 (m, 1H), 2,63 - 2,56 (m, 1H), 2,07 (dd, J = 5,4, 2,7 Hz, 1H), 1,95 - 1,86 (m, 1H), 1,86 - 1,72 (m, 2H), 1,73 - 1,53 (m, 4H), 1,54 - 1,37 (m, 2H), 1,28 (t, J = 7,1 Hz, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, MeOH-d₄) δ 174,03, 62,37, 52,00, 48,89, 29,58, 28,96, 25,94, 25,05, 21,48, 19,28, 14,56.

F. Selección de las condiciones de la reacción de Suzuki para la preparación del compuesto (Z-2)

Se realizaron y completaron trece preparaciones a escala de 1 g de Compuesto (**Z-2**) con diferentes sistemas catalíticos, incluyendo el uso de la combinación Pd(OAc)₂/X-Phos con el objetivo de crear una línea base. La combinación Pd(OAc)₂/X-Phos pareció ser superior cuando se comparó con los otros catalizadores.

Un vial de reacción de 40 ml equipado con un septo a rosca se cargó con el compuesto (**X-2**) (1,0 g, 3,3 mmol, 1,0 equiv.), el compuesto (**Y-2**) (1,7 g, 4,2 mmol, 1,25 equiv.), catalizador (0,25 % en mol) y carbonato potásico (1,8 g, 13,3 mmol, 4,0 equiv.) seguido de THF (8 ml, 8 vol). Después de comenzar la agitación, la suspensión espesa se desgasificó con 3 ciclos de vacío/nitrógeno y se calentó a 60-65 °C. Una vez alcanzada la temperatura deseada, se añadió agua desgasificada (0,32 ml, 0,3 vol) durante un periodo de 15 minutos. Después de completar la adición de agua, la mezcla de reacción se dejó en agitación a la temperatura ajustada y se hicieron ensayos de HPLC a distintos puntos temporales (Tabla 1).

Tabla 1: Cribado del catalizador para la preparación del compuesto (**Z-2**).

Catalizador	Tiempo (h)	Conversión (%)
Pd(OAc) ₂ /X-Phos	1,25	>99,9
(1,1'-bis(di-t-butilfosfinoferrocenil))PdCl ₂	1,25	91,0
	2,50	91,2
(PCy ₃) ₂ PdCl ₂	1,25	39,2
	2,00	39,7
	10,0	39,8
(tBuAmfos)PdCl ₂	1,25	41,8
	2,50	43,4
	10,0	43,4
(1,1'-bis(diciclohexilfosfinoferrocenil))PdCl ₂	1,25	27,5
	2,50	27,4
Pd(OAc) ₂ /tBuBrettfos	1,25	1,0
	2,50	1,2
(dppf) ₂ PdCl ₂	1,25	17,4
	2,50	17,4
(tri-o-tolilfosfina) ₂ PdCl ₂	1,25	13,0
	2,50	13,0
(PEt ₃) ₂ PdCl ₂	1,25	<1
	2,50	<1
(dppe)PdCl ₂	1,25	2,5
	2,50	2,5
FibreCAT 1026	1,25	<1
	3,00	<1
	10,0	1,5
(tri-t-butilfosfina) ₂ Pd ₀	1,25	2,3
	2,50	3,1
Pd(PPh ₃) ₄	1,25	4,5
	2,50	4,8

Ejemplo 3: Formación de polimorfos de la sal de HCl del compuesto (1)

5

3A: Preparación de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O

La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O se preparó mezclando solvato de tetrahidrofurano de 2-metilo (2-MeTHF) (1 equivalente) del compuesto (1) (compuesto (1)·1 (2-MeTHF)) con cloruro de hidrógeno en una mezcla de agua y un disolvente o disolventes orgánicos, donde la mezcla de agua y un disolvente o disolventes orgánicos tenía una actividad de agua de 0,05-0,85. Las condiciones de reacción particulares empleadas se resumen en la tabla 2 siguiente.

10

Tabla 2: Condiciones de reacción empleadas para la preparación de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O.

15

Comp. (1) (mg) 1(2-MeTHF)	Disolvente	Disolvente (ml)	Agua (ml)	HCl acuoso 6 N (ml)	T (°C)	Eq (HCl: compuesto (1))	Agua (% en peso)
40	Acetona	640	40	15,70	35	1,1332	8,84 %
25	Acetona	400	25	9,80	46	1,1318	8,84 %
10,09	Acetona	160	64	3,98	35	1,1389	32,71 %
5	n-propanol	186	10	1,29	20	0,7449	6,87

							%
6,01	iso-propanol	88	2	2,31	35	1,1097	5,10 %
6,6	iPrOH/Ácido acético=> Acetona*	100/1,0	4	3,10	45	1,3561	7,25 %
18	Acetona	180	6	3,60	30	0,5774	5,33 %
18	Acetona	180	8	6,40	35	1,0266	7,73 %
6	Acetona	66	11	2,82	30	1,3561	18,57 %
0,101	iBuOAc	5	0,1	0,10	~ 20	2,8586	4,36 %
6	Ácido acético	50	8,7	2,18	35	1,0499	15,37 %
*dos etapas: iPrOH/AcOH y después se volvió a suspender en acetona/agua							

Como alternativa, La forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O se preparó también por los siguientes procedimientos: *Procedimiento A*: El compuesto (1)-2-MeTHF (953 g, 2,39 mol) se puso en un reactor de 30 l con camisa y se trató con IPA (15 l) y agua (0,57 l). Se puso en funcionamiento el agitador y la mezcla de reacción se calentó a 73 °C para convertir todo en una solución, después se enfrió a 50-55 °C. A 50-55 °C la mezcla de reacción se trató con HCl en IPA recién preparado (0,83 M, 4,34 l) mediante adición lenta durante 4 h. La reacción se muestreó, para verificar la forma correcta por XRPD. Después de la adición, el enfriador se programó para descender a 0 °C durante 480 min con agitación. Después de la confirmación de la forma por análisis XRPD, la suspensión se filtró en dos filtros. El reactor se lavó con 3 l de IPA y cada torta de filtró se lavó con ~1,5 l de IPA del producto de enjuage IPA del reactor. Las tortas se dejaron secar al aire con succión durante una noche. Las tortas se colocaron después en un secador de bandeja sin calentamiento al vacío con purga de N₂ (22 inHg(74,5 kPa) durante 24 h. El análisis del agua y el disolvente residual mostraron 505 ppm de IPA, 8 ppm de 2-Me-THF y aproximadamente H₂O al 2,15 %. El material se sacó del horno y se molió conjuntamente para desaglomerarlo proporcionando 805 g de la sal de HCl del compuesto (2)·1/2 H₂O. *Procedimiento B*: Como alternativa, se usó acetona en lugar de IPA, pero de una manera similar a como se ha descrito anteriormente en el procedimiento A para formar la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O.

Los distintos picos observados en la XRPD y picos en la RMN de estado sólido C¹³ se resumen en las tablas 3 A y 3B, respectivamente.

Tabla 3A: Picos en la XRPD de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O.

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	10,5	100,0
2	5,2	71,6
3	7,4	46,8
4	18,9	42,0
5	25,2	41,7
6	16,5	39,5
7	18,1	28,1
8	23,0	27,5
9	24,1	25,3
10	20,2	21,6
11	26,4	21,3
12	15,8	19,8
13	21,8	18,3
14	13,8	17,6
15	27,4	17,3
16	29,0	16,7
17	14,8	15,0

18	32,0	15,0
19	25,7	13,8
20	28,6	13,4
21	33,8	13,0
22	12,8	12,0
23	30,8	11,7
24	32,4	11,6
25	24,5	11,5
26	23,4	11,1
27	21,0	10,4

Tabla 3B: Picos de la RMN de estado sólido C^{13} de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O.

Pico#	Cambio químico [\pm 3 ppm]	Intensidad [rel]
1	180,1	50,4
2	157,9	9,1
3	154,6	26,4
4	150,7	25,3
5	144,9	31,0
6	140,1	6,7
7	132,4	36,3
8	131,2	30,0
9	129,0	21,0
10	117,5	33,6
11	114,0	38,0
12	107,0	34,4
13	54,8	42,0
14	47,7	52,7
15	29,2	100,0
16	24,6	74,0
17	22,1	83,6

- 5 Se encontró que la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O preparada era estable en los siguientes sistemas disolventes (pero sin limitación): clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, hexano, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, nitrometano, tetralina, xileno, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, t-butilmetiléter, cumeno, etanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, 2-metil-propanol, pentano, 1-propanol, 1-pentanol, 2-propanol, acetato de propilo, tetrahydrofurano, tetrahydrofurano de metilo. Específicamente, para los ensayos de solubilidad y estabilidad de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, se cargaron muestras del compuesto en viales de HPLC de 2 ml con 500 μ l de disolvente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 semanas y se filtró por centrifugación. Los sólidos resultantes se analizaron por XRPD, las soluciones se analizaron para solubilidad mediante RMN cuantitativa frente a patrones de hidroquinona. Los resultados se resumen en la tabla 4.

Tabla 4: Resumen de los datos de forma y solubilidad de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1).

Disolvente	Sol. (mg/ ml)	Formas resultantes
Acetonitrilo	0,5	Solvato
Clorobenceno	<0,1	A
Cloroformo	<0,1	Solvato
Ciclohexano	<0,1	A
1,2-Dicloroetano	1,7	A
Diclorometano	0,1	A
1,2-Dimetoxietano	0,5	A

1,4-Dioxano	0,4	A
Etilenglicol	108,1	Solvato
Hexano	<0,1	A
Metanol	46,4	Solvato
2-Metoxietanol	34,1	A
Metil butil cetona	0,4	A
Metilciclohexano	<0,1	A
Nitrometano	<0,1	A
Tetralina	<0,1	A
Tolueno	<0,1	A
1,1,2-tricloroetano	<0,1	A
xileno	<0,1	A
Acetona	1,5	A
Anisol	<0,1	A
1-Butanol	2,9	A
2-Butanol	2,9	A
Acetato de butilo	0,2	A
t-butilmetiléter	0,4	A
Cumeno	<0,1	A
Dimetilsulfóxido	346,5	Solvato
Etanol	19,9	A
Acetato de etilo	0,2	A
Éter etílico	0,1	A
Formiato de etilo	0,4	A
Ácido fórmico	214,0	Solvato
Heptano	<0,1	A
Acetato de isobutilo	0,2	A
Acetato de isopropilo	0,4	A
Acetato de metilo	0,6	A
3-metil-1-butanol	3,2	A
Metil etil cetona	0,5	A
2-metil-1-propanol	3,5	A
Pentano	<0,1	A
1-pentanol	3,3	A
1-propanol	10,7	A
2-propanol	3,3	A
Acetato de propilo	0,8	A
Tetrahidrofurano	0,7	A
Tetrahidrofurano de metilo	0,7	A
Agua	0,6	F

Se obtuvieron los datos del termograma (los datos no se muestran) colocando la muestra en una bandeja de muestras de platino y calentando a 10 °C/min hasta 300 °C desde temperatura ambiente. Los datos del termograma demostraron una pérdida de peso del 2,1 % de 30 ° a 170 °C, lo que concordaba con el hemihidrato teórico (2,0 %).

5

Los datos del termograma por DSC se obtuvieron (los datos no se muestran) calentando la muestra a 10 °C/min hasta 300 °C desde la temperatura ambiente. El termograma por DSC mostraron una temperatura de inicio de la deshidratación de 50-100 °C seguido de una temperatura de inicio de la fusión/descomposición de 200-260 °C.

10 3B: Preparación de la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O

La forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O puede prepararse suspendiendo la forma A de la sal de HCl del

compuesto (1)·1/2 H₂O en iso-propanol y agua o acetona y agua o agua (con un valor de actividad de agua igual a, o mayor de 0,9).

5 Por ejemplo, suspensión de 100 mg de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O en 5 ml de iso-propanol/agua o acetona/agua a una actividad de agua de 0,9 se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La decantación del sobrenadante y el secado lento al aire del material sólido resultante proporcionó la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O.

10 Los distintos picos observados en la XRPD y picos en la RMN de estado sólido C¹³ se resumen en las tablas 5 y 6, respectivamente.

Tabla 5: Los picos en la XRPD de la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O.

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	7,1	100,0
2	9,6	83,0
3	11,9	88,8
4	12,4	84,6
5	16,4	83,5
6	17,1	83,0
7	17,5	82,8
8	19,2	86,9
9	21,1	82,2
10	21,8	83,7
11	23,9	83,8
12	28,7	83,4

Tabla 6: Picos de la RMN de estado sólido C¹³ de la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O.

Pico#	Cambio químico [± 3 ppm]	Intensidad [rel]
1	178,6	67,6
2	156,8	21,5
3	154,3	49,3
4	152,1	12,6
5	151,2	21,3
6	142,5	37,0
7	132,3	85,7
8	127,9	15,4
9	118,0	38,6
10	117,5	43,7
11	115,2	36,3
12	114,5	35,2
13	106,1	15,4
14	104,8	31,6
15	52,7	43,1
16	52,3	37,2
17	48,8	44,8
18	48,4	46,4
19	30,3	100,0
20	27,4	35,4
21	25,5	37,4
22	24,5	44,5
23	23,8	40,9
24	22,0	46,4

Pico#	Cambio químico [± 3 ppm]	Intensidad [rel]
25	21,1	47,0
26	20,7	50,5
27	20,3	47,7

Se obtuvo un termograma por MDSC (los datos no se muestran) calentando la muestra a 2 °C/min hasta 350 °C desde -20 °C y modulado a ± 1 °C cada 60 s. El termograma por MDSC mostró una deshidratación por debajo de 150 °C, fusión y recristalización entre 150 °C y 200 °C y degradación por encima de 250 °C.

También se realizó análisis termogravimétrico (TGA) de la forma. El termograma mostró una pérdida de peso del 12 % hasta 125 °C que estaba cercano al trihidrato teórico (11 %). La TGA-MS indicó que la pérdida de peso del segundo paso por debajo de 200 °C era la pérdida de HCl. El inicio de la fusión/descomposición estaba alrededor de los 270-290 °C.

3C: Preparación de la forma D de la sal de HCl del compuesto (1)

El anhídrido de la forma D de la sal de HCl del compuesto (1) normalmente puede fabricarse deshidratando la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O. La deshidratación puede hacerse mediante calentamiento o purgado con nitrógeno seco o la combinación de ambos. Por ejemplo, se calentaron 2 mg de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2H₂O en una placa caliente, generando el anhídrido de la forma D deseado a aproximadamente 85 °C.

Los distintos picos observados en la XRPD y picos en la RMN de estado sólido C¹³ se resumen en las tablas 7 y 8, respectivamente.

Tabla 7: Picos de la XRPD de la forma D de la sal de HCl anhidro del compuesto (1).

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta $\pm 0,2$)	Intensidad %
1	5,3	100,0
2	10,5	56,0
3	15,9	49,2
4	25,9	30,5
5	21,0	24,6
6	26,5	24,1
7	5,8	22,6
8	7,4	21,7
9	19,0	17,4
10	16,6	17,2
11	25,3	16,1
12	24,7	16,0
13	29,4	15,5
14	13,8	14,6
15	20,3	14,5
16	32,0	14,4
17	19,5	12,4
18	28,6	12,4
19	17,1	11,5
20	30,3	11,4
21	27,5	11,0
22	27,0	10,7
23	23,7	10,4
24	28,0	10,2
25	21,6	10,1

Tabla 8: Picos de la RMN de estado sólido C¹³ de la forma D de la sal de HCl anhidro del compuesto (1).

Pico#	Cambio químico [\pm 3 ppm]	Intensidad [rel]
1	179,7	43
2	177,8	44,85
3	157,5	16,88
4	154,9	43,14
5	151,1	25,79
6	149,8	21,51
7	145,0	26,82
8	143,9	35,41
9	141,6	14,85
10	139,7	12,9
11	135,4	29,94
12	132,5	43,37
13	130,1	23,65
14	128,9	27,35
15	127,3	25,35
16	118,1	27,24
17	116,6	28,25
18	113,3	52,71
19	107,5	29,33
20	106,1	30,73
21	54,4	39,43
22	53,4	42,25
23	48,2	54,53
24	47,2	47,8
25	31,6	52,54
26	29,4	100
27	26,0	50,37
28	24,8	47,38
29	23,9	63,88
30	22,9	98,06
31	20,2	45,7

3D: Ensayos de actividad de agua

- Un estudio de competición de la suspensión de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O sembrado con la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O, con actividades de agua de 0,0 a 0,8 de alcohol isopropílico/agua mostró que la forma A fue la más estable entre la forma D de la sal de HCl anhidro del compuesto (1), la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O y la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O, después de aproximadamente 2 semanas de agitación en condiciones ambiente. En una actividad de IPA/agua de 0,9, la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O se convirtió en la forma F de la sal de HCl del compuesto (1)·3 H₂O. Los resultados de estos estudios se resumen en la tabla 9 siguiente.

Tabla 9: Ensayos de actividad de agua en la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O en mezclas de IPA/agua.

Formas de partida	Actividad de agua (a_w)	Agua % en peso	Forma final	Descripción
A+F	0 + >80 °C		D	Anhidrato
A+F	0		A	Hemihidrato
A+F	0,1	0,1	A	Hemihidrato
A+F	0,2	0,25	A	Hemihidrato
A+F	0,3	0,35	A	Hemihidrato
A+F	0,4	0,55	A	Hemihidrato
A+F	0,5	0,75	A	Hemihidrato

A+F	0,6	1,00	A	Hemihidrato
A+F	0,7	1,35	A	Hemihidrato
A+F	0,8	1,85	A	Hemihidrato
A+F	0,9	2,80	F	Trihidrato
A+F	1	100	F	Trihidrato

3F: Sal de HCl amorfa del compuesto (1)

La sal de HCl del compuesto amorfo (1) puede formarse tratando sal de Me₂NEt del compuesto (1) (1,985 g) en agua y 2-MeTHF con 1,05 equiv. de NaOH, seguido de tratamiento con HCl para eliminar la amina y precipitar la sal de la capa acuosa (pH 2-3). La suspensión resultante se concentró para eliminar los orgánicos y después se filtró. El sólido resultante se aclaró con porciones pequeñas de agua y se secó. Se preparó la sal de Me₂NEt del compuesto (1) de acuerdo con el documento WO 2010/148197, seguido de la separación quiral y purificación habituales: la cromatografía quiral SCF con un modificador que incluye Me₂NEt (que generó sal de Me₂NEt del compuesto (1)).

Ejemplo 4: Formación de polimorfos del compuesto de base libre (1)

4A: Preparación de la forma A del compuesto de base libre (1)

La forma A del compuesto de base libre (1) se produjo mediante el siguiente procedimiento: La base libre amorfa en bruto del compuesto (1) (aproximadamente 135 g) se transfirió a un reactor de 4 l con camisa y el reactor se cargó con etanol (2,67 l) y agua (0,325 l) (solución de agua al 10 %). La mezcla se calentó a temperatura de reflujo. Se añadió agua (300 ml) a la mezcla resultante de la etapa 2) para fabricar una solución en agua al 20 %. La mezcla resultante se lavó después a 55 °C (velocidad = -1°C/min) y posteriormente se mantuvo durante 30 minutos. Después se añadió la semilla cristalina de la base libre de la forma A del compuesto (1) (1,5 g, 3,756 mmol) en la mezcla enfriada y la mezcla resultante se mantuvo durante 30 minutos mientras el producto se precipitaba. La semilla de la base libre cristalina de la forma A del compuesto (1) se produjo suspendiendo la del compuesto de base libre amorfo (1) (20 mg) en nitrometano (0,5 ml). Se produjeron materiales de siembra adicionales de base libre cristalina de la forma A del compuesto (1) suspendiendo del compuesto de base libre amorfo (1) (900 mg) en acetonitrilo (10 ml) con la semilla obtenida usando nitrometano. En la mezcla que contenía la semilla de base libre cristalina de la forma A del compuesto (1) se añadió lentamente agua (795,0 ml) para fabricar una solución en agua al 40 %. La mezcla resultante se enfrió lentamente a 0°C (~ -10°C/hora) y posteriormente se mantuvo durante 2 horas. Los materiales sólidos se filtraron después y se secaron al aire y después de volvieron a secar en horno a 60°C durante 18 horas.

Como alternativa, se usó solvato de 2-metil THF del compuesto de base libre (1) en lugar del compuesto de base libre amorfo (1) y también se obtuvo la forma A del compuesto de base libre (1) de una manera similar a como se ha descrito anteriormente.

Se encontró que la forma A del compuesto (1) preparada era estable en los siguientes sistemas disolventes (pero sin limitación): acetonitrilo, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, etilenglicol, formamida, hexano, metil butil cetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidinona, nitrometano, tetralina, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, ácido acético, anisol, 1-butanol, acetato de butilo, cumeno, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, pentano, acetato de propilo, agua, agua-iso-propanol (1:3 vol/vol) y agua-acetonitrilo (1:1 vol/vol; 1:3 vol/vol).

Los distintos picos observados en la XRPD y picos en la RMN de estado sólido C¹³ se resumen en las tablas 10 y 11, respectivamente.

Tabla 10: Picos de la XRPD de la forma A del compuesto (1).

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	11,8	100,0
2	18,9	100,0
3	16,9	99,8
4	15,5	99,7
5	22,0	99,7
6	25,5	99,7
7	9,1	99,4
8	23,6	98,6
9	27,6	98,5

ES 2 684 755 T3

10	17,5	98,3
11	23,0	98,3
12	24,0	98,3
13	13,7	98,2
14	20,2	98,2
15	12,5	97,8
16	10,6	97,7
17	15,8	97,5
18	20,6	97,5
19	12,9	97,4
20	24,7	97,4
21	26,2	97,4
22	6,2	97,3
23	21,1	97,3

Tabla 11: Picos de la RMN de estado sólido C¹³ de la forma A del compuesto (1).

Pico #	Cambio químico [± 3 ppm]	Intensidad [rel]
1	180,0	60,1
2	176,2	68,7
3	175,9	62,4
4	160,2	28,8
5	158,6	18,4
6	157,9	28,1
7	157,3	47,2
8	156,0	34,3
9	155,4	49,7
10	152,3	32,5
11	151,4	49,5
12	146,5	18,6
13	144,4	61,1
14	143,8	56,4
15	142,9	19,2
16	140,2	21,2
17	138,5	55,6
18	133,6	29,4
19	132,3	61,4
20	131,0	52,1
21	126,2	23,0
22	121,5	35,8
23	120,8	39,3
24	119,7	90,9
25	116,2	59,3
26	115,3	44,3
27	112,7	35,0
28	52,5	39,0
29	51,6	75,9
30	50,4	94,8
31	49,8	74,6
32	31,8	80,4

33	31,2	53,0
34	30,5	86,0
35	30,1	95,1
36	28,5	100,0
37	26,3	81,0
38	25,9	96,1
39	25,0	82,2
40	22,8	66,97
41	22,2	55,41
42	21,6	64,44
43	21,0	82,87
44	20,4	57,45
45	19,8	52,2

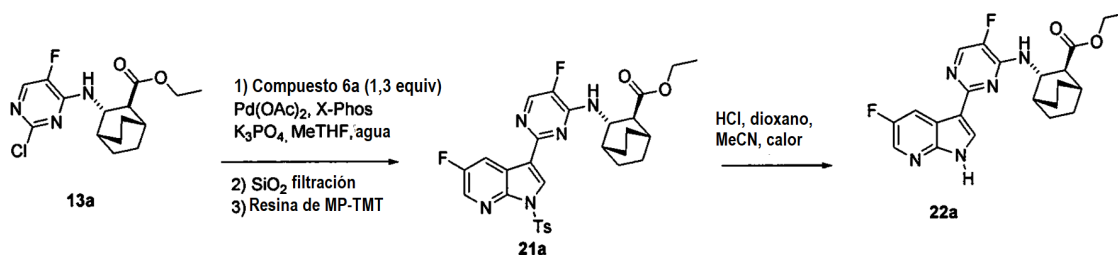
Se realizó análisis termogravimétrico del producto, forma A del compuesto (1), se realizó (los datos no se muestran) en los instrumentos para TGA de TA modelo Q500 colocando una muestra del mismo en una bandeja de muestras de platino y calentando posteriormente la bandeja a 10 °C/min hasta 300 °C desde la temperatura ambiente. El termograma demostró que el inicio de descomposición estaba alrededor de los 293 °C.

También se obtuvo un termograma por DSC de la forma A del compuesto (1) usando instrumentos TA DSC Q200. Una muestra de la forma se calentó a 10 °C/min hasta 350 °C. El termograma por DSC mostró que la temperatura de fusión estaba alrededor de los 278 °C.

4B: Preparación de la forma B de hidratos del compuesto de base libre (1)

Una forma hidratada del compuesto de base libre (1) era isomórfica con la forma A del compuesto de base libre (1) - la forma A del compuesto de base libre (1) podía convertirse libremente a la forma hidratada B cuando se exponía a humedad alta y se revertía cuando la humedad descendía. De acuerdo con los cambios de fase determinados usando experimentos de DSC (datos no mostrados), la temperatura de transición era cercana a la temperatura ambiente y variaba con la actividad de agua. Por ejemplo, a temperatura ambiente, la forma hidrato se observó donde la actividad de agua era superior a 0,6, tal como 0,6-1,0.

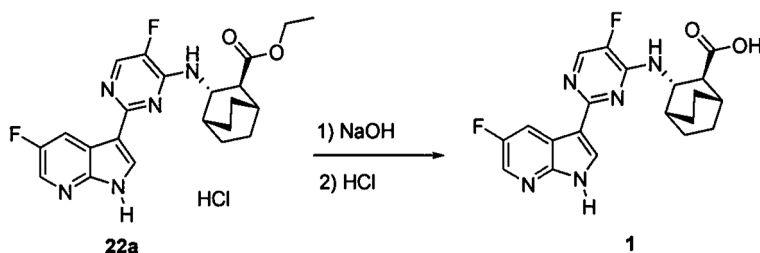
4C: Preparación de compuesto de base libre amorfo (1)



Se realizó acoplamiento de Suzuki tomando la cloropirimidina, el compuesto **13a**, éster borónico del compuesto **6a**, catalizador Pd(OAc)₂ y ligando (X-Phos) en 10 vol de 2-MeTHF. Esta mezcla se calentó a 65 °C y se añadieron 2 vol de una solución acuosa al 50 % de K₃PO₄ a una velocidad que mantuvo la mezcla de reacción a 65 °C. Ambas reacciones se completaron, después se enfriaron a 20 °C y se filtraron a través de celite. Las capas acuosas se separaron como desperdicio, las capas orgánicas se lavaron con NaCl acuoso al 5 % y después se concentraron a sequedad para dar aproximadamente 3,5 kg de una pasta de color verde oscuro para cada una. El aceite en bruto se dividió en 4 partes iguales, se suspendieron con 400 g de SiO₂ y 500 g de florisil y se eluyeron a través de una columna de 2,3 kg de SiO₂ con heptano/EtOAc (5:1 a 3:1, fracciones de 2 l) combinando todos los productos que contenían fracciones. Estas fracciones se concentraron a sequedad para dar aproximadamente 2,9 kg del compuesto **21a**.

El compuesto **21a** se disolvió en 10 vol (25 l) de CH₃CN y se trataron con 4 equiv. de HCl (4,31 l de HCl 4 N en 1,4-dioxano) a 70 °C durante 15 h. La reacción se consideró 100 % completa por HPLC y la suspensión fina se enfrió a 20 °C en 1 h. Se añadió TBME (28 l, 11 vol) a 0,5 l/min llegando la suspensión a hacerse muy espesa (gelatinosa) al final de la adición. Después de 4 - 5 h agitando, la suspensión se disolvió mucho. Los sólidos resultantes se recogieron mediante filtración por succión y se lavaron con 3 x 5 l TBME proporcionando una torta de baja densidad y se secaron en una corriente de N₂ durante 3 días para dar 1,71 kg (86 % de rendimiento, 98,9 % de pureza en la

ABC) del HCl del compuesto **22a**.



- 5 Se añadió una solución de NaOH (55,60 ml de 2M, 111,2 mmol) a una suspensión del compuesto **22a**-HCl (10 g, 22,23 mmol) en 2-MeTHF (100,00 ml) a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 5 h y después adicionalmente a 67 °C. Después de aproximadamente 22 horas de agitación, se añadieron 100 ml (10 vol) de 2-MeTHF a la mezcla resultante. El lote se enfrió después a 0 °C. Se añadió HCl a la mezcla resultante para ajustar el pH a pH 6,6 para producir el compuesto de base libre en bruto (**1**). El material en bruto en 60 ml (6 vol) of 2-Me-THF
- 10 se calentó a 50 °C. Se añadieron 50 ml (5 vol) de n-heptano en la mezcla resultante durante 1 hora. El lote se enfrió después a 20 °C. El producto sólido se filtró y el producto sólido se purificó adicionalmente por cromatografía en columna (EtOAc/heptano 2:1 a 4:1). Sus datos de XRPD indicaron compuesto de base libre amorfo (**1**).

- 15 Como alternativa, se observó compuesto de base libre amorfo (**1**) a partir de una mezcla de la forma A del compuesto de base libre (**1**) y un disolvente seleccionado entre 2-etoxietanol, 2-metoxietanol, t-butilmetiléter, ácido fórmico o metiletil cetona (por ejemplo, véase la tabla 13 siguiente), que se agitó a temperatura ambiente.

*4D: Preparación de solvato 2-MeTHF del compuesto de base libre (**1**)*

- 20 El compuesto (**1**)·1(2-MeTHF) se preparó como se describe en el ejemplo 2 anterior. Los distintos picos observados en la XRPD del compuesto se resumen en la tabla 12.

Tabla 12: Picos de la XRPD del compuesto (**1**)·1(2-MeTHF).

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta ± 0,2)	Intensidad %
1	6,4	9,78
2	8,4	38,07
3	9,7	43,96
4	12,9	15,57
5	16,7	100
6	16,9	46,55
7	17,4	18,67
8	19,4	16,54
9	20,0	14,62
10	21,0	20,4
11	21,3	13,58
12	22,3	37,59
13	24,3	15,36
14	25,7	16,34
15	25,9	10,06

- 25 *4F: Datos de solubilidad y estabilidad de la forma A del compuesto de base libre (**1**) y el compuesto amorfo (**1**) en distintos sistemas disolventes*

- La solubilidad y estabilidad de la forma A del compuesto de base libre (**1**) ("forma A") y el compuesto amorfo (**1**) ("amorfo") en distintos sistemas disolventes se ensayó a temperatura ambiente de una manera similar a como se ha descrito anteriormente para las de la forma A de la sal de HCl del compuesto (**1**). Los datos resultantes se resumieron en la tabla 13.
- 30

Tabla 13: Datos de solubilidad y estabilidad de la forma A del compuesto de base libre (1) ("Forma A") y el compuesto amorfo (1) ("Amorfo").

Disolvente	Forma de partida A		Amorfo de partida
	Sol. (mg/ ml)	Forma resultante	Forma resultante
Acetonitrilo	1,0	A	Amorfo
Clorobenceno	0,4	A	Amorfo
Cloroformo	3,8	A	Amorfo
Ciclohexano	<0,1	A	Amorfo
1,2-Dicloroetano	0,4	A	Amorfo
Diclorometano	0,9	A	Amorfo
1,2-Dimetoxietano	114,0	A	Amorfo
N,N-dimetilacetamida	>150	Solvato	Solvato
N,N-dimetilformamida	39,2	Solvato	Sin señal
1,4-Dioxano	21,3	Solvato (1:1)	Solvato (1:1)
2-etoxietanol	>113	Amorfo	Sin señal
Etilenglicol	10,4	A	Solvato
Formamida	7,0	A	Amorfo
Hexano	<0,1	A	Amorfo
Metanol	25,5	Solvato	Solvato
2-Metoxietanol	>114	Amorfo	Sin señal
Metil butil cetona	20,0	A	Amorfo
Metilciclohexano	<0,1	A	Amorfo
N-metilpirrolidinona	>149	A	Sin señal
Nitrometano	0,3	A	Amorfo
Tetralina	<0,1	A	Amorfo
Tolueno	0,3	A	Amorfo
1,1,2-tricloroetano	1,0	A	Amorfo
xileno	0,3	Solvato	Amorfo
ácido acético	42,8	A	Solvato
Acetona	16,3	Solvato	Solvato
Anisol	0,7	A	Amorfo
1-Butanol	21,0	A	Solvato (1:1)
2-Butanol	14,0	Solvato (1:1)	Solvato (1:1)
Acetato de butilo	8,1	A	Amorfo
t-butilmetiléter	10,4	Amorfo	Amorfo
Cumeno	0,3	A	Amorfo
Dimetilsulfóxido	>113	Sin señal	Sin señal
Etanol	35,5	Sin señal	A
Acetato de etilo	11,6	A	Amorfo
Éter etílico	3,5	A	Amorfo
Formiato de etilo	8,1	A	Solvato (1:1)
Ácido fórmico	>89,4	Amorfo	Sin señal
Heptano	<1,5	A	Solvato
Acetato de isobutilo	4,4	A	Amorfo
Acetato de isopropilo	6,2	A	Amorfo
Acetato de metilo	9,4	Solvato	Solvato
3-metil-1-butanol	9,7	A	Solvato
Metil etil cetona	27,3	Amorfo	Solvato (1:1)
2-metil-1-propanol	12,2	A	Solvato (1:1)

Pentano	<0,3	A	Amorfo
1-pentanol	14,5	Sin señal	Solvato (1:1)
1-propanol	15,9	Solvato	Sin señal
2-propanol	12,9	Solvato (1:1)	Solvato (1:1)
Acetato de propilo	7,5	A	Amorfo
Tetrahidrofurano	61,2	Solvato (1:1)	Solvato (1:1)
Tetrahidrofurano de metilo	34,8	Solvato (1:1)	Solvato (1:1)
Agua	<0,1	A	Amorfo
Agua-IPA 1:1	-	Solvato	-
Agua-IPA 1:3	-	A	-
Agua-ACN 1:1	-	A	-
Agua-ACN 1:3	-	A	-
Agua-MeOH 1:1	-	Solvato	-
Agua-MeOH 1:3	-	Solvato	-

Ejemplo 5: Preparación de la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1)

La forma A de la sal de tosilato del compuesto (1) se preparó suspendiendo la del compuesto de base libre amorfo (1) (500 mg) y ácido p-toluenosulfónico en acetonitrilo (20 ml). Las muestras se agitaron durante una noche. Los distintos picos observados en la XRPD del compuesto se resumen en la tabla 14.

Como alternativa, podía usarse solvato de 2-metil THF del compuesto de base libre (1) en lugar del compuesto de base libre amorfo (1) para preparar la forma A del tosilato del compuesto (1) de una manera similar a como se ha descrito anteriormente.

Tabla 14: Picos de la XRPD de la forma A de la sal de tosilato del compuesto (1).

Picos XRPD	Ángulo (2-Theta \pm 0,2)	Intensidad %
1	6,0	30,21
2	7,2	100
3	9,3	37,8
4	12,9	13,96
5	13,7	39,23
6	14,3	50,25
7	14,7	42,94
8	16,4	9,99
9	16,9	89,79
10	18,7	59,65
11	19,3	19,62
12	19,6	33,34
13	20,3	11,38
14	20,8	11,98
15	21,9	41,6
16	23,0	33,45
17	24,2	14,97
18	25,4	23,83
19	26,3	44,54
20	26,9	51,79
21	27,5	34,02
22	28,0	36,07
23	29,1	13,36
24	29,7	8,92
25	32,2	9,25

26	33,1	4,75
----	------	------

Ejemplo 6: Formulaciones del compuesto (1)*A. Comprimidos de compuesto (1)**Composiciones*

Para la formación de comprimidos, se usó la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O (en lo sucesivo, sencillamente compuesto (1) para el ejemplo 6). Todos los excipientes satisfacían las monografías actuales de la Farmacopea Europea y la USP/NF y se adquirieron de proveedores aprobados.

En la tabla 15A se proporciona la composición de la formulación y el tamaño del lote para la mezcla de previa a la granulación y la solución aglutinante de granulación. El tamaño del lote de la solución aglutinante incluyó un exceso del 100 % para la calibración de la bomba y el cebado de las líneas de solución. En la tabla 15B también se proporciona la composición teórica de la mezcla de compresión. Las cantidades reales para el lote se calcularon basándose en el rendimiento de los gránulos secos. La composición y el tamaño aproximado del lote de la suspensión de recubrimiento de película se proporciona en la tabla 15B e incluyó un exceso del 100 % para la calibración de la bomba y el cebado de las líneas de suspensión. La cantidad diana del recubrimiento de película fue del 3,0 % p/p del peso del comprimido.

Tabla 15A: Composiciones de comprimidos del compuesto (1).

		% en la mezcla de pregranulación	% en el gránulo seco	% en el núcleo del comprimido	mg en el comprimido (300 mg)
Intragranular	Semihidrato cristalino del compuesto (1), sal de HCl (forma A)	76,13	74,99	50,00	333,00
	Avicel PH-101, NF, PhEur	10,03	9,88	6,59	43,89
	Monohidrato de lactosa, n.º 316, NF, PhEur	10,03	9,88	6,59	43,89
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP	3,81	3,75	2,50	16,65
	mezcla de pregranulación total:	100,00	98,50	65,68	437,43
En solución aglutinante	Povidona K30, USP		1,50	1,0	6,66
	Agua, USP		na	na	na
	gránulos totales:		100,00	66,68	444,09
Extragranular	Prosolv 50, NF			28,82	191,94
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP			2,50	16,65
	SSF, NF			2,00	13,32
	Total núcleo del comprimido			100	666,00
En suspensión de recubrimiento de película	Opadry II, 85F18422			(3,2 respecto del núcleo)	21,31
	Agua, USP				na
	Total comprimido recubierto final				687,31

Tabla 15B: Composición de la suspensión de recubrimiento de película y tamaño aproximado del lote.

Componente	% P/P	Tamaño del lote (g)
Opadry II Blanco, 33G	15,00	210,00
Agua, USP	85,00	1190,00
Total	100,00	1400,00

Preparación de solución aglutinante

La solución aglutinante consistía en povidona y agua. La solución se preparó basándose en un contenido de agua del 40 % en la granulación final. Por tanto, la cantidad total de sólidos en solución (povidona) era del 3,6 % (p/p). Se

preparó una cantidad en exceso del 100 % para cebar las líneas, etc. Basándose en la inspección visual del inicio del ciclo de granulación, se prepararon soluciones madre adicionales de ± 2 % (38-42 %) de agua en la granulación final. Normalmente, se pesaron 87,00 g de Povidona K30 y 2320,00 g de agua purificada (DI) y en agitación constante, se añadió la povidona K30 al recipiente que contenía el agua DI. Después de la adición, se selló el recipiente para minimizar la evaporación y se agitó la solución hasta que se disolvieron por completo todos los sólidos presentes.

Flujo del proceso de granulación en húmedo

La granulación en húmedo se llevó a cabo mediante los procedimientos descritos a continuación: Se pesó una cantidad en exceso (10 %) de compuesto (1), Avicel PH-101, lactosa Fastflo y croscarmelosa de sodio (véase la tabla 15A). Se tamizaron usando un tamiz manual de malla 20 o un molino de cono equipado con un tamiz de malla rallado de 813µm a 1000 rpm (para un Quadro Co-mill U5). Los materiales tamizados se colocaron en bolsas o recipientes individuales. Después, se transfirieron los materiales a una mezcladora y se mezclaron durante 15 minutos, normalmente a 15 RPM. Los materiales mezclados se molieron usando un molino de conos Quadro U5 equipado con un tamiz de agujeros cuadrados de 4 mm a 1000 rpm. Los materiales molidos se mezclaron de nuevo, repitiendo la etapa de mezclado. Después, se introdujeron los materiales remezclados en un granulador de tornillos gemelos. La granulación en húmedo en bruto se alimentó en un granulador usando un alimentador de pérdida de peso (K-tron o similar). Después, se granularon los materiales resultantes. Se inyectó el fluido aglutinante (véase la tabla 15A) en el granulador de tornillos gemelos usando una bomba peristáltica. La relación de velocidad de alimentación de solución frente a la velocidad de alimentación de polvo fue de 0,4095. Por ejemplo, en caso de que la velocidad de alimentación del polvo fuese de 15,00 g/min, la velocidad de alimentación de la solución fue $0,4095 \times 15,00 = 6,14$ g/min, con un contenido de agua del 40 % (basándose en la masa en seco). Los sublotos de gránulos se recogieron en bandejas de secado previamente taradas. Los materiales recogidos se pulverizaron uniformemente sobre una bandeja y se secó el material en un horno para formar gránulos secados. Los gránulos secados se colocaron en un K-tron para restringir la carga de manera continua en un molino de cono y posteriormente se molieron.

Mezclado extragranular y proceso de compresión

El proceso de mezclado extragranular y compresión se llevó a cabo mediante los procedimientos descritos a continuación: Se pesó la cantidad de los excipientes extragranulares basándose en la composición de la mezcla de compresión. Los excipientes pesados se tamizaron usando un Comil U5 con un tamiz 32C y un propulsor de barra redonda a 1000 rpm. Los gránulos molidos del compuesto (1) se añadieron en primer lugar a la mezcladora que contenía Avicel PH-102 y Ac-Di-Sol tamizados. Se mezclaron durante 8 minutos a 16 RPM. Se tamizó el estearil sodio (SSF) a través de un tamiz manual de malla 50 en un recipiente adecuado. Se colocó una porción de la mezcla extragranular igual a aproximadamente 10 veces en masa la cantidad de SSF en el recipiente con el SSF y se mezcló en la bolsa durante 30 segundos antes de añadir la mezcla a la cuba de la mezcladora. Después, todos los materiales se mezclaron durante 2 minutos a 16 rpm. Después, se comprimió la mezcla final de acuerdo con los parámetros del proceso de compresión de comprimidos indicados.

Proceso de recubrimiento con película

Se aplicó un recubrimiento con película a los núcleos de comprimido con un recubridor de bandeja Vector VPC 1355 en forma de una suspensión acuosa al 15 % p/p de Opadry II blanco n.º 33G. La cantidad diana del recubrimiento de película fue del 3,0 % p/p del peso del núcleo del comprimido, con un intervalo aceptable del 2,5 % al 3,5 %. Para lograr esto, se roció una cantidad de suspensión de recubrimiento equivalente a una ganancia de peso del 3,2 %, lo que proporcionó un 3,0 % de recubrimiento, suponiendo una eficacia del recubrimiento del 95 %.

Formulaciones intravenosas (IV) del compuesto (1)

Se suministró para administración intravenosa (IV) la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O (en lo sucesivo, sencillamente compuesto (1) para el ejemplo 6) en forma de una solución de 2 mg/ml. La composición de la solución, junto con la referencia de calidad y la función de cada componente se proporcionan en las tablas 16A y 16B.

Tabla 16A: Composición del vehículo de solución^a.

Componente	Estándar de calidad	Función del componente	Cantidad (mg/50g de solución IV)	Contenido (% p/p)
Fosfato de sodio monobásico, anhidro	USP	Agente tamponador	26	0,052
Fosfato de sodio dibásico, heptahidrato	USP	Agente tamponador	1281	2,562

Dextrosa, anhidra	USP	Modificador de la tonicidad	500	1,000
Agua para inyección	USP	Disolvente	48.193	96,386
Total	--	--	50.000	100 %
Abreviaturas: USP, Farmacopea de los Estados Unidos				
^a Se ajustará el pH de la solución con NaOH o HCl				

Tabla 16B: Composición de solución intravenosa del compuesto (1)^a.

Componente	Función del componente	Cantidad (mg/50 g de solución IV)	Contenido (% p/p)
Compuesto (1) ^b	Fármaco	111	0,222
Vehículo de solución (de la tabla 1)	Disolvente	49.889	99,778
Total	--	50.000	100 %

^aSe ajustó el pH de la solución con NaOH o HCl. La densidad de la solución es de 1,000 g/cm³.
^b El fármaco fue un semihidrato de la sal de HCl. La cantidad de fármaco se calculó basándose en el equivalente de base libre anhidra activa, donde el factor de conversión de la base libre a la sal de HCl de semihidrato es de 1,11.

Ejemplo 7: Ensayo *in vivo* para la combinación del compuesto (1) con o sin oseltamivir

5

Se trató a ratones infectados con vehículo o niveles de dosis en aumento de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)-1/2 H₂O en combinación con la dosis clínicamente relevante de oseltamivir, comenzando 48 horas después de la exposición a gripe A o 2 horas antes de la exposición a gripe B.

10 **Métodos:** En estos estudios, se formuló la forma A de sal de HCl del semihidrato del compuesto (1) (en lo sucesivo simplemente compuesto (1) para el ejemplo 7) en un vehículo que contenía MC al 0,5 % (p/v) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO), proporcionando una suspensión homogénea y la dosis del compuesto se basó en la sal de HCl del semihidrato del compuesto (1). El oseltamivir se formuló en agua destilada desionizada, proporcionando una suspensión homogénea. Se formuló la combinación del compuesto (1) con oseltamivir en un vehículo que contenía
15 MC al 0,5 % (p/v). Las formulaciones de combinación se prepararon al comienzo de cada estudio y se almacenaron a 4 °C durante hasta 10 días, con agitación en la oscuridad. Todas las formulaciones y vehículos se administraron a ratones por sonda oral en un volumen de dosis de 10 ml/kg.

20 Se anestesió a ratones Balb/c macho (5-7 semanas, 17-19 gramos) y se les inoculó una dosis letal de virus de la gripe adaptado para ratones A/PR/8/34 o B/Mass/3/66 mediante instilación intranasal. Se reclutó a ocho ratones por cada grupo de estudio. Los tratamientos se iniciaron +48 horas después de la inoculación para la gripe A o 2 horas antes de la inoculación para la gripe B. Se administraron vehículo (10 ml/kg) y compuesto (1) a dosis de 0,1 -10 mg/kg solo o en combinación con 10 ml/kg de oseltamivir por vía oral (PO) dos veces al día (BID) durante 10 días en el estudio de gripe A. Se administraron vehículo (10 ml/kg) y compuesto (1) a dosis de 1 10 mg/kg solo o en
25 combinación con 10 ml/kg de oseltamivir por vía oral (PO) dos veces al día (BID) durante 10 días en el estudio de gripe B. Se pesó a los ratones y se les observó a diario respecto de signos de morbilidad durante 21 días después de la infección. Además, se monitorizó la función pulmonar mediante WPB sin restricción (Buxco, Troy, NY).

30 Se obtuvieron gripe A/PR/8/34 (VR-1469) y gripe B/Mass/3/66 (VR-523) de la ATCC (Manassas, VA). Se prepararon soluciones madre mediante métodos convencionales conocidos en la técnica. En resumen, se pasó el virus a una baja multiplicidad de infección en células de riñón canino Madin-Darby (células MDCK, CCL-34, ATCC), se recogió el sobrenadante después de aproximadamente 48 horas y se centrifugó a 650 x g durante 10 minutos. Se congelaron reservas del virus a -80 °C hasta su uso. Se calcularon los títulos de virus (TCID₅₀/ml) mediante el método Spearman-Kärger después de diluir en serie la muestra del virus, infectando cultivos de MDCK replicados y midiendo
35 el efecto citopático (CPE) basándose en el contenido de ATP a las 96 horas (CellTiter-Glo, Promega, Madison WI).

Se pesó a los ratones a diario durante 21 días después de la infección. Los datos de peso corporal se analizaron usando ANOVA de dos vías y prueba posterior de Bonferroni para comparar los grupos. Valores de P menores de 0,05 se consideraron significativos.

40

Se observó a los ratones a diario durante 21 días después de la infección por gripe. Cualquier ratón con una puntuación positiva durante cuatro de las seis observaciones siguientes (pérdida de PC >35 %, pelaje erizado, postura encorvada, dificultad respiratoria, movilidad reducida o hipotermia) se consideró moribundo, después se le sacrificó y se clasificó como muerte de acuerdo con las guías establecidas por el Vertex Institutional Animal Care and Use Committee. Los datos de supervivencia se analizaron usando el método de Kaplan-Meier.

45

Se sometió a los ratones a WBP sin restricción (Buxco, Troy, NY). La función se expresa como pausa mejorada

(Penh), un valor adimensional calculado que refleja la resistencia pulmonar. Este valor se obtiene a partir de los cambios en la presión del recipiente contenedor que fluctúa a consecuencia de los cambios en el patrón de respiración del animal. La broncoconstricción de las vías respiratorias del animal afectarán al flujo de aire y, por lo tanto, a la presión en el recipiente contenedor. Se efectúa un seguimiento de los cambios en la presión durante la expiración (PEP) y la inspiración (PIP). Los valores de Penh se calcularon de acuerdo con la fórmula $\text{Penh} = \text{pausa} \times \text{PEP}/\text{PIP}$, donde "pausa" refleja el tiempo de la expiración. Se aclimató a los ratones en la cámara de pletismografía durante 15 minutos, después se recogieron datos a intervalos de un minuto, se promediaron a lo largo de 10 minutos y se expresaron como valores de Penh absolutos. Los datos se analizaron usando ANOVA de dos vías y prueba posterior de Bonferroni para comparar los grupos. Valores de P menores de 0,05 se consideraron significativos.

Resultados: El compuesto (1) se evaluó en combinación con oseltamivir para determinar su capacidad para prevenir la mortalidad y la morbilidad, reducir la pérdida de PC y prevenir y/o restaurar la función pulmonar en un modelo murino de infección pulmonar por gripe frente al tratamiento solo con compuesto (1) u oseltamivir. La combinación no mostró efectos perjudiciales en la eficacia de cada uno de los fármacos en comparación con cada fármaco administrado individualmente. Además, el tratamiento de combinación mostró sinergia en el tratamiento de la gripe A ya que la dosis de fallo para cada compuesto individualmente (0,3 y 10 mg/kg de compuesto (1) y oseltamivir, respectivamente) cuando se combinaron, aumentó la supervivencia de un 0 a un 100 por ciento. El compuesto (1) tiene poca actividad contra la gripe B *in vivo* (tal como se esperaba de los datos *in vitro* disponibles) y no interfiere con la eficacia del oseltamivir.

Modelo de ratón de gripe A: Todos los controles tratados con vehículo sucumbieron a la enfermedad en los días 9 u 10. El tratamiento con 1, 3 y 10 mg/kg solo de compuesto (1) BID proporcionó protección completa frente a la muerte, menor pérdida de PC y una función pulmonar recuperada cuando se inició la dosis +48 horas después de la infección en comparación con los controles de vehículo (tabla 17). El tratamiento con 0,1 y 0,3 mg/kg de compuesto (1) y 10 mg/kg de oseltamivir administrado solo no protegió frente a la muerte, ni redujo la pérdida de PC ni restauró la función pulmonar cuando se inició el tratamiento +48 horas después de la infección por gripe A. Curiosamente, 0,3mg/kg de compuesto (1) y oseltamivir administrados conjuntamente +48 horas después de la infección por gripe A proporcionó una protección completa frente a la muerte, menor pérdida de PC y función pulmonar restaurada.

Tabla 17: Datos de eficacia *in vivo* del compuesto (1) con o sin oseltamivir administrado + 48 horas después de la infección por gripe A.

Combinación de compuesto (1)/oseltamivir en la gripe A						
Oseltamivir mg/kg	0			10		
Compuesto (1) mg/kg	Supervivencia (21 días) (%)	Pérdida de peso (Día 8) (%)	Penh (Día 3)	Supervivencia (21 días) (%)	Pérdida de peso (Día 8) (%)	Penh (Día 3)
0	0	33,9	2,28	0	32,0	2,36
0,1	0	34,2	2,15	0	31,6	2,09
0,3	0	32,4	1,90	100	29,3	1,80
1	100	28,2	2,11	100	23,4	1,23
3	100	22,2	1,68	100	17,6	1,11
10	100	14,6	0,95	100	8,4	0,79

Modelo de ratón de gripe B: Todos los controles tratados con vehículo sucumbieron a la enfermedad en los días 7 u 8. La administración de 1, 3 o 10 mg/kg de compuesto (1) solo -2h antes de la infección por gripe B y continuada BID durante 10 días no proporcionó una protección significativa contra la morbilidad, la pérdida de PC o la pérdida de función pulmonar en comparación con los controles. El oseltamivir administrado a 10 mg/kg solo o junto con 1, 3 o 10 mg/kg de compuesto (1) -2h antes de la infección por gripe B proporcionó protección completa frente a la muerte, redujo la pérdida de PC y restauró la función pulmonar (tabla 18).

Tabla 18: Datos de eficacia *in vivo* del compuesto (1) con o sin oseltamivir administrado + 48 horas después de la infección por gripe B.

Combinación de compuesto (1)/oseltamivir en la gripe B						
Oseltamivir mg/kg	0			10		
Compuesto (1) mg/kg	Supervivencia (21 días) (%)	Pérdida de peso (Día 8) (%)	Penh (Día 6/7)	Supervivencia (21 días) (%)	Pérdida de peso (Día 8) (%)	Penh (Día 6/7)
0	0	ND	2,20	100	12,8	1,08
1	0	33,6	1,90	100	7,7	1,26

3	0	33,9	2,06	100	11,5	1,41
10	0	33	2,04	100	9,7	1,17

Ejemplo 8: Ensayo *in vivo* para la combinación del compuesto (1) con oseltamivir

Se trató a ratones infectados con vehículo o niveles de dosis crecientes de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1)·1/2 H₂O (en lo sucesivo, simplemente compuesto (1) para el ejemplo 8) en combinación con zanamivir comenzando 24 horas antes de la exposición a gripe A con 5x10³ TCID₅₀ de A/PR/8/34. Las suspensiones de exposición a gripe A y de compuesto (1) se prepararon de un modo similar al descrito anteriormente en el ejemplo 7. Se trató a los ratones expuestos una vez por vía IN (intranasal) con zanamivir a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg 24 horas antes de la exposición IN con 5x10³ TCID₅₀ de A/PR/8/34 y con compuesto (1) a 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg o 1 mg/kg BID durante 10 días, comenzando -2 horas antes de la exposición con 5x10³ TCID₅₀ de A/PR/8/34.

Los resultados se resumen en las tablas 19A y 19B más adelante. Tal como se muestra en la tabla 19A a continuación, la terapia de combinación con compuesto (1) y zanamivir proporcionó un beneficio de supervivencia extra (tabla 19A). El cociente de eficacia, una medida compuesta de supervivencia, pérdida de peso corporal y función pulmonar (% de supervivencia/(% de pérdida de peso corporal en el día 8)*(Penh en el día 6)) se resume en la tabla 19B.

Tabla 19A: Tasa de supervivencia: Terapia de combinación de compuesto (1) con zanamivir.

		1ª dosis de compuesto (1) (mg/kg, BID) 2h antes de la infección			
			0,1	0,3	1
Zanamivir (mg/kg, IN x 1), 1ª dosis 24 h antes de la infección	0	0	12,5	44,4	100
	0,3	37,5	0	100	100
	1	50	75	100	100
	3	62,5	100	100	100

Tabla 19B: Cociente de eficacia: Terapia de combinación de compuesto (1) con zanamivir.

		1ª dosis de compuesto (1) (mg/kg, BID) 2h antes de la infección			
			0,1	0,3	1
Zanamivir (mg/kg, IN x 1), 1ª dosis 24 h antes de la infección	0	--	--	0,59	2,32
	0,3	0,44	--	1,35	2,97
	1	0,73	1,00	1,61	2,31
	3	0,73	1,30	1,48	4,28

Ejemplo 9: Eficacia profiláctica y después de la infección del compuesto (1) en el modelo de infección por gripe A de ratón

25 Materiales y métodos

Animales: Se obtuvieron ratones BALB/c hembra de 18-20 g de Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME) para el experimento antivírico. Se mantuvo a los animales con comida de roedor estándar y agua corriente a voluntad. Se les sometió a cuarentena durante 48 horas antes de su uso.

Virus: Se obtuvo virus de la gripe A/California/04/2009 (pndH1N1) adaptado para ratones de la Dra. Elena Govorkova (St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN). La solución madre del virus se amplificó en células MDCK, seguido de titulación de la letalidad en ratones BALB/c. Se obtuvo virus de la gripe A/Victoria/3/75 (H3N2) de la American Type Culture Collection (Manassas, VA). El virus se pasó siete veces en ratones para adaptarlo a ratones, seguido de un pase en células MDCK. Posteriormente, se tituló la letalidad del virus en ratones BALB/c para obtener la dosis de exposición letal adecuada. Se obtuvo virus de la gripe A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) del Dr. Jackie Katz de Centers for Disease Control (Atlanta, GA). Se expuso a los ratones a una dosis letal del virus (5 MLD₅₀, 5 UFP/ratón), que previamente había causado la muerte entre los días 6-13, con una mortalidad del 90-100 % en el día 10 con esta dosis.

Compuestos: Se obtuvo oseltamivir (como Tamiflu®) de una farmacia local. Cada cápsula de Tamiflu contiene 75 mg del componente activo, oseltamivir carboxilato, tras el metabolismo en el organismo. La dosis de oseltamivir se basó en esta medida. Se usó la forma A de semihidrato de sal de HCl del compuesto (1) (en lo sucesivo, simplemente compuesto (1) para el ejemplo 9) y la dosis del compuesto se basó en el semihidrato de la sal de HCl del compuesto (1). Tanto el compuesto (1) como el oseltamivir se prepararon en metilcelulosa al 0,5 % (Sigma, St. Louis, MO) para

administración por sonda oral (p.o.) a ratones.

Diseño experimental: Se anestesió a los ratones por inyección intraperitoneal de ketamina/xilazina (50/5 mg/kg) y se infectó a los animales por vía intranasal con una suspensión de 90 µl del virus de la gripe. La exposición al virus fue aproximadamente cuatro dosis infecciosas letales en ratones al 50 %. Los tratamientos se administraron dos veces al día (a intervalos de 12 horas) durante 10 días, comenzando 2 horas antes de la exposición al virus o 48 horas después de la exposición, como se indica. Los parámetros para evaluar la infección fueron supervivencia, día medio de la muerte, cambios de peso corporal y parámetros de infección pulmonar (puntuación de hemorragia, peso y título vírico). Se pesó a los animales de manera individual cada dos días hasta el día 21 de la infección. Se consideró que los ratones que murieron durante los seis primeros días del periodo de tratamiento habían muerto por causas distintas de la infección por virus de la gripe y se excluyeron de los recuentos totales.

Para evaluar los parámetros de infección pulmonar, se recogieron los pulmones de los animales sacrificados (inicialmente, 5 animales por gripe separados para este fin). Se evaluó la puntuación de hemorragia pulmonar mediante inspección visual de los cambios de color, de rosa a violáceo. Esto se produce regionalmente en los pulmones, en lugar de mediante un cambio gradual del pulmón al color más oscuro. Las puntuaciones de hemorragia variaron de 0 (normal) a 4 (todo el pulmón mostrando un color violáceo) y por lo tanto, es una medida no paramétrica. Se pesaron los pulmones y después se congelaron a -80 °C. Después, se homogeneizaron los pulmones descongelados en 1 ml de medio de cultivo celular, se centrifugaron los fluidos del sobrenadante para eliminar el material en partículas y se volvieron a congelar las muestras líquidas a -80 °C. Después de preparar placas de 96 pocillos de células MDCK, se descongelaron las muestras, se diluyeron en serie en incrementos de dilución de factor 10 y se titularon mediante el método de dilución de criterio de valoración en las placas (1) usando 4 micropocillos por dilución. Los títulos víricos se calcularon en forma del log10 de las dosis infecciosas de cultivo celular al 50 % por gramo de tejido pulmonar (log10 CCID50/g).

Análisis estadístico: Se analizaron las comparaciones para múltiples grupos de Kaplan-Meier mediante la prueba de rangos logarítmicos de Mantel-Cox para determinar la significación estadística. Posteriormente, se efectuaron comparaciones emparejadas mediante el método de Gehan-Breslow-Wilcoxon. La significación experimental relativa se ajustó a un umbral de significación corregido de Bonferroni basándose en el número de comparaciones de tratamiento efectuadas. La media del día de la muerte y la media de la puntuación de hemorragia pulmonar se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Los pesos corporales medios, los pesos pulmonares, y el log10 de los títulos de virus en el pulmón se evaluaron mediante ANOVA suponiendo una varianza igual y una distribución normal. Después de la ANOVA, se compararon los valores de tratamiento individuales mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer. Los análisis se efectuaron usando el programa Prism® (GraphPad Software, San Diego, CA).

Resultados y discusión

Se investigó la respuesta a la dosis profiláctica del compuesto (1) se investigó en el modelo de gripe A de ratón. La dosificación con vehículo o compuesto (1) se inició 2 h antes de la infección y se continuó dos veces al día durante 10 días. Los resultados se resumen en las tablas 20 y 21. Todos los ratones que recibieron solo vehículo sucumbieron a la infección en el día 9 del estudio y habían perdido, de media, 32 % de su peso corporal (PC). El compuesto (1) administrado a 1, 3 o 10 mg/kg BID proporcionó una supervivencia completa y una reducción dependiente de la dosis en la pérdida de PC. El compuesto (1) administrado a 0,3 mg/kg BID proporcionó cierto beneficio de supervivencia (2/8 ratones) aunque los ratones tuvieron una pérdida de PC significativa. En el mismo experimento, se dosificó a los ratones oseltamivir a 10 mg/kg BID, una dosis clínicamente equivalente a la humana (basándose en la ABC). Todos los ratones a los que se administró oseltamivir sobrevivieron con un perfil de pérdida de peso similar al de los ratones a los que se administró 1 mg/kg BID de compuesto (1).

El compuesto (1) aún proporcionó eficacia en este modelo, expuestos a virus de la gripe A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) cuando se administró 48 horas después de la infección, con dosis BID continuada durante 10 días (tabla 22). La dosis de compuesto (1) a 10 mg/kg proporcionó protección completa, tal como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20: Efectos de la profilaxis con compuesto (1) y Oseltamivir en una infección por virus de la gripe A/California/04/2009 (pndH1N1) en ratones BALB/c (profilaxia).

Compuesto (mg/kg) ^a	Supervivientes /Total	MDD ^b ± DT	Parámetros pulmonares medios (día 6)		
			Puntuación	Peso (mg)	Título vírico ^c
Compuesto 1 (10mg/kg)	10/10***	-	0,2 ± 0,4**	132 ± 20***	<2 6 ^d ***
Compuesto 1 (3 mg/kg)	9/9***	-	0,0 ± 0,0***	123 ± 21 ***	3,1 ± 0,9***
Compuesto 1 (1 mg/kg)	10/10***	-	0,6 ± 0,9 ^e	246 ± 21*	5,5 ± 1,2***
Oseltamivir (10 mg/kg)	10/10***	-	1,0 ± 0,0 ^e	178 ± 28***	7,9 ± 0,2
Placebo	2/20	9,9 ± 1,3	3,4 ± 0,5	282 ± 26	7,9 ± 0,4

^a Dosis por tratamiento, administrada dos veces al día durante 10 días comenzando 2 horas antes de la exposición al virus.

- ^b Día medio de la muerte de ratones que murieron en el día 21 o antes.
^c Log10 CCID50/g.
^d Por debajo del límite de detección (2,6 log 10).
^e No significativo, debido a la muy rigurosa prueba de comparación múltiple de Dunn, pero de manera significativa frente al placebo (P<0,01) mediante la prueba de la U de Mann-Whitney de dos colas. * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, en comparación con placebo.

Tabla 21: Efectos del compuesto (1) y Oseltamivir en una infección por virus de la gripe A/Victoria/3/75 (H3N2) en ratones BALB/c (profilaxia).

Compuesto (mg/kg) ^a	Supervivientes/ Total	MDD ^b ± DT	Parámetros pulmonares medios (día 6)		
			Puntuación	Peso (mg)	Título vírico ^c
Compuesto 1 (10 mg/kg)	10/10***	-	0,1 ± 0,2 ^d	164 ± 11**	6,1 ± 0,5***
Compuesto 1 (3 mg/kg)	10/10***	-	3,3 ± 0,6 ^e	260 ± 25	7,2 ± 0,2
Compuesto 1 (1 mg/kg)	4/10	9,8 ± 1,9	3,2 ± 0,3 ^e	274 ± 49	7,3 ± 0,3
Oseltamivir (10mg/kg)	9/10***	7,0	1,7 ± 1,1	218 ± 24	7,0 ± 0,3**
Placebo	3/20	9,8 ± 2,1	2,2 ± 0,6	264 ± 54	7,8 ± 0,4

^a Dosis por tratamiento, administrada dos veces al día durante 10 días comenzando 2 horas antes de la exposición al virus.
^b Día medio de la muerte de ratones que murieron en el día 21 o antes.
^c Log10 CCID50/g.
^d No significativo, debido a la muy rigurosa prueba de comparación múltiple de Dunn, pero de manera significativa frente al placebo (P<0,01) mediante la prueba de la U de Mann-Whitney de dos colas.
^e Igual que la nota al pie "d", pero significativo respecto a placebo a nivel de P<0,05. ** P<0,01, *** P<0,001, en comparación con placebo.

5 Tabla 22: Efectos del tratamiento (+48h) con compuesto (1) y Oseltamivir en una infección por virus de la gripe A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) en ratones BALB/c.

Compuesto (mg/kg) ^a	Supervivientes/ Total	MDD ^b ± DT	Parámetros pulmonares medios (día 6)	
			Peso (mg)	Título vírico ^c
Compuesto 1 (10mg/kg)	10/10	>21	0,15 ± 0,02	3,75 ± 0,94
Oseltamivir (10mg/kg)	0/10	9,5 ± 1,2	0,17 ± 0,02	5,22 ± 0,38
Placebo	0/20	9,9 ± 0,8	0,16 ± 0,02	4,65 ± 1,23

^a Dosis por tratamiento, administrada dos veces al día durante 10 días comenzando 2 horas antes de la exposición al virus.
^b Día medio de la muerte de ratones que murieron en el día 21 o antes.
^c Log 10 CCID50/g.

Ejemplo 10: Eficacia *in vitro* del compuesto (1) contra una serie de cepas de gripe

- 10 **Células y virus.** Se obtuvieron células de riñón canino Madine Darby (MDCK) originariamente de la American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) y se pasaron usando técnicas de laboratorio estándar, antes de su uso en ensayos de infección. Las células se mantuvieron a 37 °C en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM; Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con suero bovino fetal al 10 % (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), L glutamina 2 mM, HEPES 10 mM, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin (Invitrogen). El virus de la gripe se
- 15 obtuvo de la ATCC, la Virus Surveillance and Diagnosis Branch de la Influenza Division del Centers for Disease Control and Prevention (CDC; Atlanta, GA) o la Influenza Reagent Resource, Influenza Division, WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, CDC. Para generar las soluciones madre de virus, se infectaron células MDCK con una baja multiplicidad de infección (MDI) en DMEM complementado con L-glutamina 2mM, HEPES 10mM, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin y 1 µg por ml de tripsina tratada con
- 20 tolilsulfonil fenilalanil clorometil cetona (TPCK) (USB Corp.; Santa Clara, CA). Las células se incubaron a 37°C con CO₂ al 5 % durante 48 h, tiempo tras el cual se recogió el sobrenadante por centrifugación a 900 x g durante 10 min con una centrifugadora GS-6R. Se separaron las soluciones madre de virus en alícuotas y se congelaron a -80 °C.
- 25 **Compuestos.** Base libre o sal de HCl del compuesto (1) (por ejemplo, sal de HCl amorfa del compuesto (1), semihidrato de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1), se disolvió la base libre amorfa del compuesto (1)) (en lo sucesivo, simplemente compuesto (1) para el ejemplo 10) en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100 % para preparar una solución con una concentración de 10 mM.

Actividad antivírica. Se evaluó la actividad antivírica del compuesto (1) y de amantadina en células MDCK midiendo los niveles de ATP usando CellTiter-Glo (Promega; Madison, WI). Se sembraron células MDCK en placas de 384 pocillos negras de fondo transparente, hasta una densidad de 2×10^4 células por pocillo en 50 μ l de VGM. Las células se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 %, en saturación de humedad para permitir que se adhiriesen las células y formasen una monocapa. Tras 5 h, se retiraron 40 μ l y se añadieron 15 μ l de virus a una MDI de 0,005. El compuesto se añadió en 25 μ l de una dilución de factor tres de diez puntos en DMEM con suplementos (concentración final de DMSO del 0,5 %). Los controles internos consistieron en pocillos que contenían solo células y células no tratadas infectadas con el virus. Después de una incubación de 72 horas, se añadieron 20 μ l de CellTiter-Glo a cada pocillo y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min. La luminiscencia se midió usando un lector multimarcador EnVision (PerkinElmer; Waltham, MA). Se calcularon los valores de CE₅₀ (concentración de compuesto que asegura una viabilidad celular del 50 % del control no infectado) ajustando los datos de dosis de compuesto frente a respuesta usando un método de ajuste de curva de 4 parámetros que emplea el algoritmo de Levenburg-Marquardt (programa informático Condoseo; Genedata, Basilea, Suiza). Se llevaron a cabo pruebas *in vitro* de hpaH5N1 en Southern Research Institute con un nivel de seguridad BSL-3.

Como se muestra en la Tabla 23 a continuación, el compuesto (1) mostró una potente actividad contra todas las cepas de la gripe A ensayadas, incluyendo las cepas de referencia H1N1 y H3N2 de 1934 a 2009, así como las cepas pandémicas de H1N1 de 2009 A/California/07/2009, A/Texas/48/2009 y la cepa H5N1 aviar altamente patógena A/VN/1203/2004. El compuesto (1) fue igualmente eficaz contra todas las cepas, incluyendo aquellas resistentes a la amantadina y a inhibidores de neuraminidasa. Mostró actividad contra el virus de la gripe B.

Tabla 23: Eficacia del compuesto (1) contra un panel de cepas de gripe.

Cepa de gripe	Cepa de Inf. virus	Subtipo	Ensayo de protección celular ^a CE ₅₀ \pm DT
			Comp (1) (nM)
A/WSN/33 ^a	A	H1N1	3,2 \pm 4,3
A/NWS/33 ^a	A	H1N1	0,73 \pm 0,10
A/Puerto Rico/8/34 ^a	A	H1N1	3,2 \pm 1,8
A/Weiss/43 ^a	A	H1N1	0,31 \pm 0,23
A/FM/1/47	A	H1N1	0,57 \pm 0,036
A/Mal/302/54	A	H1N1	0,57 \pm 0,055
A/Denver/1/57	A	H1N1	0,42 \pm 0,19
A/Chelyabinsk/1/2006	A	H1N1	0,70 \pm 0,49
A/Florida/3/2006	A	H1N1	0,92 \pm 1,5
A/Fukushima/141/2006	A	H1N1	0,18 \pm 0,20
A/Georgia/17/2006	A	H1N1	0,13 \pm 0,048
A/Georgia/20/2006 ^b	A	H1N1	2,6 \pm 3,8
A/Missouri/3/2006	A	H1N1	0,21 \pm 0,060
A/St. Petersburg/8/2006 ^a	A	H1N1	0,88 \pm 0,69
A/Virginia/01/2006 ^a	A	H1N1	0,42 \pm 0,24
A/Cambodia/0371/2007 ^{a*}	A	H1N1	0,61 \pm 0,33
A/South Dakota/6/2007	A	H1N1	0,31 \pm 0,25
A/California/07/2009 NYMCX-179A ^a	A	H1N1	2,7 \pm 1,8
A/Aichi/2/68	A	H3N2	1,4 \pm 1,1
A/Hong Kong/8/68	A	H3N2	0,60 \pm 0,11
A/Port Chalmers/1/73 ^a	A	H3N2	0,54 \pm 0,11
A/Victoria/3/75	A	H3N2	1,3 \pm 0,63
A/Wisconsin/67/2005 ^a	A	H3N2	1,8 \pm 0,24
A/Hawaii/2/2006	A	H3N2	1,4 \pm 0,91
A/Nebraska/1/2006 ^{a*}	A	H3N2	2,1 \pm 1,3
A/Texas/12/2007 ^{a*c}	A	H3N2	0,65 \pm 0,22
A/Uruguay/716/2007 ^a	A	H3N2	3,5 \pm 5,1
A/New Jersey/8/76	B	H1N1	0,20 \pm 0,096
A/California/07/2009 ^a	C	H1N1	1,8 \pm 1,6

A/Mexico/4108/2009 ^a	C	H1N1	2,7 ± 1,8
A/New York/18/2009	C	H1N1	0,59 ± 0,40
A/Texas/48/2009 ^b	C	H1N1	2,8 ± 3,2
A/Virginia/ATCC2/2009	C	H1N1	1,9 ± 3,0
A/Virginia/ATCC3/2009	C	H1N1	1,9 ± 3,2
A/Swine/Iowa/15/30	C	H1N1	0,65 ± 0,082
A/Swine/1976/31	C	H1N1	0,47 ± 0,11
A/Equine/2/Miami/63	C	H3N8	0,50 ± 0,065
A/Vietnam/1203/2004 ^a	K	H5N1	<1,5 ± ND
B/Lee/40			>10 ± ND
B/Russia/69			>10 ± ND
^a : resistencia a amantadina: mutación M2 3 IN. ^b : resistencia a oseltamivir carboxilato: mutación NA 275Y. ^c : resistencia a oseltamivir carboxilato: mutación NA 119V. *: resistencia fenotípica validada externamente, datos de secuencia no disponibles.			

Ejemplo 11: Experimentos de combinación *in vitro* con compuesto (1) y oseltamivir, zanamivir o favipiravir

Se probó una solución del compuesto (1) (base libre o sal de HCl del compuesto (1) de manera similar al ejemplo 10) en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100 % en un ensayo basado en CPE en células MDCK de tres días, infectadas con A/Puerto Rico/8/34 a una MDI de 0,01, en experimentos de combinación con el inhibidor de neuraminidasa oseltamivir carboxilato y zanamivir o el inhibidor de polimerasa, T-705. Se disolvieron el oseltamivir carboxilato y T-705 en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100 %; el zanamivir se disolvió en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) a una concentración de 10 mM y se almacenó a -20 °C. El estudio empleó el método de independencia de Bliss (Macsynergy) (por ejemplo, Prichard, M.N. y C. Shipman, Jr., *Antiviral Res*, 1990. 14(4-5): p. 181-205) o el método de aditividad/mediana de efecto de Loewe (por ejemplo, Chou, T.C. y P. Talalay, *Adv Enzyme Regul*, 1984.22: págs. 27-55). El método de independencia de Bliss implica probar diferentes combinaciones de concentración de inhibidores de un modo en damero, mientras que el método de independencia de Loewe implica probar una combinación en proporciones fijas de inhibidores, a diferentes diluciones de la proporción fija. También se llevaron a cabo experimentos combinaciones del compuesto (1) consigo como control, confirmando la avidéz. La viabilidad celular se determinó usando CellTiter-Glo.

El método de independencia de Bliss dio como resultado volúmenes de sinergia de 312 y 268 para oseltamivir carboxilato y zanamivir, respectivamente; y se obtuvo un volumen de sinergia de 317 para favipiravir. Los volúmenes de sinergia mayores de 100 se consideran generalmente sinergia fuerte y los volúmenes entre 50 y 100 se consideran sinergia moderada. El método de aditividad de Loewe produjo valores de I.C. (índice de combinación) de 0,58, 0,64 y 0,89 a un nivel de efecto del 50 % para oseltamivir, zanamivir y T-705, respectivamente. Los valores de I.C. menores de 0,8 se consideran una fuerte sinergia, mientras que los valores entre 0,8 y 1,0 se consideran de aditivo a levemente sinérgico. Estos datos en conjunto, como se muestra en la tabla 24, sugieren que el compuesto (1) es sinérgico con los inhibidores de neuraminidasa y el inhibidor de polimerasa ensayados.

Tabla 24: Resumen de experimentos de sinergia y antagonismo *in vitro*.

<u>Aditividad de Loewe</u>	Índice de combinación			Resultado
	DE ₅₀	DE ₇₅	DE ₉₀	
Compuesto (1) + oseltamivir	0,60, 0,56	0,57, 0,56	0,59, 0,58	Fuerte sinergia
Compuesto (1) + zanamivir	0,68, 0,61	0,67, 0,66	0,71, 0,77	Fuerte sinergia
Compuesto (1) + favipiravir	0,83, 0,96	0,76, 1,0	0,71, 1,1	Aditividad hasta sinergia débil
<u>Independencia de Bliss</u>	Volumen de sinergia, confianza al 95 %			<u>Resultado</u>
Compuesto (1) + oseltamivir	312			Fuerte sinergia
Compuesto (1) + zanamivir	268			Fuerte sinergia
Compuesto (1) + favipiravir	317			Fuerte sinergia
DE ₅₀ , DE ₇₅ , DE ₉₀ : Concentración de compuesto a la cual un 50 %, 75 % o 90 %, respectivamente, de las células están protegidas; Los índices de combinación se calcularon a los niveles de efecto de DE ₅₀ , DE ₇₅ y DE ₉₀ .				

Ejemplo 12: Eficacia en el modelo de infección por gripe A de ratón

Se investigó en el modelo de gripe A de ratón la respuesta a una dosis profiláctica de compuesto (1) (como

semihidrato de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1) (en lo sucesivo en este ejemplo, compuesto (1)). La dosificación con vehículo o compuesto (1) se inició 2 h antes de la infección y se continuó dos veces al día durante 10 días. Todos los ratones que recibieron solo vehículo sucumbieron a la infección en el día 9 del estudio y habían perdido, de media, 32 % de su peso corporal (PC). El compuesto (1) administrado a 1, 3 o 10 mg/kg BID proporcionó una supervivencia completa y una reducción dependiente de la dosis en la pérdida de PC. El compuesto (1) administrado a 0,3 mg/kg BID proporcionó cierto beneficio de supervivencia (2/8 ratones) aunque los ratones tuvieron una pérdida de PC significativa. En el mismo experimento, se dosificó a los ratones oseltamivir a 10 mg/kg BID, una dosis clínicamente equivalente a la humana (basándose en la ABC). Todos los ratones a los que se administró oseltamivir sobrevivieron con un perfil de pérdida de peso similar al de los ratones a los que se administró 1 mg/kg BID de compuesto (1).

Se investigó el grado hasta el cual podía retrasarse la administración del compuesto (1) y seguir proporcionando eficacia en este modelo exponiendo a los ratones al virus de la gripe A y administrando a los ratones vehículo, oseltamivir o compuesto (1) comenzando 24, 48, 72, 96 o 120 h después de la infección, con dosis BID continuada durante 10 días (tabla 25). Todos los controles de vehículo sucumbieron a la enfermedad en los días 8 o 9 del estudio. El compuesto (1) administrado a 1, 3 o 10 mg/kg BID proporcionó una protección completa frente a la muerte y redujo la pérdida de PC cuando se inició la dosis hasta 72 h después de la infección, en comparación con los controles de vehículo. La dosificación de oseltamivir a 10 mg/kg BID solo proporcionó protección completa cuando se inició la dosificación 24 h o menos, después de la infección. Cuando se retrasó aún más la administración del compuesto, el compuesto (1) a 3 o 10 mg/kg BID proporcionó supervivencia completa a las 96 h después de la infección y protección parcial cuando el inicio de la dosificación se retrasó hasta 120 h después de la infección.

Se investigó la eficacia del compuesto (1) para reducir los títulos víricos pulmonares. Se infectó a ratones con gripe A y 24 horas después, se les administró vehículo, oseltamivir (10 mg/kg BID) o compuesto (1) (3, 10, 30 mg/kg BID) hasta la recogida de los pulmones y la determinación de la carga pulmonar en el día 6 (tabla 26). Todos los grupos a los que se administró compuesto (1) mostraron reducciones robustas y estadísticamente significativas en los títulos víricos pulmonares en comparación con los animales a los que se administró oseltamivir y vehículo.

Para establecer un modelo PK/PD, se infectó a ratones con virus de la gripe durante 24 h y después se les administró compuesto (1) durante 24 h adicionales. Las dosis se fraccionaron en forma de una sola dosis, dos o cuatro dosis administradas cada 12 h o 6 h, respectivamente. Se recogieron los pulmones y plasma para determinar las cargas víricas pulmonares y las concentraciones de compuesto (1). Se representaron los datos de título pulmonar individuales de estas pautas posológicas (q6h, q12h y q24h) frente a los valores de $C_{\text{máx}}$, $C_{\text{mín}}$ o ABC (datos no mostrados). Aunque había una clara correlación entre la reducción del título vírico y la $C_{\text{mín}}$, había poca correlación con la $C_{\text{máx}}$ y solo una débil correlación con la ABC. Hubo una fuerte correlación con la $C_{\text{mín}}$ cuando las concentraciones medidas del compuesto (1) en plasma se representaron frente a los títulos pulmonares medidos. La reducción semimáxima en los títulos pulmonares (2-3 log) se produce próxima a la CE_{99} desplazada en suero (100 ng/ml). Se observó una correlación similar entre el título vírico y las concentraciones de compuesto (1) medidas en los pulmones (datos no mostrados).

Tabla 25: Resumen del porcentaje de supervivencia y porcentaje de pérdida de peso corporal en el modelo de ratón de gripe A.

Tiempo de inicio del tratamiento en relación a la infección (h)	Dosis de compuesto (1) (mg/kg; BID)	Dosis de oseltamivir (mg/kg; BID)	Porcentaje de supervivencia	Porcentaje de pérdida de peso corporal en el día 8 del estudio
-2 ^a	10		100	-2,8
	3		100	-8,7
	1		100	-16,8
	0,3		25	-30,4
	0,1		0	-31,9
		10	100	-19,1
	0		0	-32,2
+24 ^a	10		100	-6,2
	3		100	-14,2
	1		100	-23,4
		10	100	-28,9
	0		0	-33,8
+48 ^a	10		100	-7,1
	3		100	-10,9

	1		100	-22,5
		10	80	-31,1
	0		0	-34,4
+72 ^a	10		100	-17,4
	3		100	-23,2
	1		100	-29,4
		10	0	-31,3
	0		0	-36,1
+96 ^b	10		100	-25,5
	3		100	-27,3
		10	ND ^c	ND ^c
	0		0	-34,6
+120 ^b	10		37,5	-34,4
	3		12,5	-32,6
		10	ND ^c	ND ^c
	0		0	-34,6

^aLos datos son de experimentos independientes.
^bLos datos son del mismo experimento.
^cND, no determinado.

Tabla 26: Resumen del título vírico pulmonar y reducción de Log₁₀ en el modelo de ratón de gripe A.

Tratamiento ^a	Estudio 1		Estudio 2	
	Título vírico pulmonar (Log ₁₀ TCID ₅₀) ^b	Reducción de Log ₁₀ frente a vehículo	Título vírico pulmonar (Log ₁₀ TCID ₅₀) ^b	Reducción de Log ₁₀ frente a vehículo
10 mg/kg BID de vehículo	6,20		6,28	
10 mg/kg BID de oseltamivir	6,05	-0,15		
30 mg/kg BID de compuesto (1)	3,95	-2,25***	4,53***	-1,75
10 mg/kg BID de compuesto (1)			5,20***	-1,08
3 mg/kg BID de compuesto (1)			5 24***	-1,04

^a El tratamiento de los animales se inició 24 horas después de la infección y se continuó durante 5 días.
^b Los títulos víricos pulmonares se determinaron en el día 6 del estudio.
^c ND, no determinado.
ANOVA de 2 vías con prueba posterior de Bonferroni, ***P<0,001.

Ejemplo 13: Prueba de concepto de exposición a gripe

5 Anteriormente, se usó un modelo de exposición a gripe vivo atenuado para predecir la eficacia de los antiviricos contra la gripe en la infección natural en seres humanos (Calfee, D.P., Peng, A.W., Hussey, E.K., Lobo, M. y Hayden F.G. Safety and efficacy of once daily intranasal zanamivir in preventing experimental human influenza A infection. Antivir Ther. 4, 143-149 (1999); Hayden, F.G. *et al.* Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in

10 experimental human influenza. *JAMA* 282, 1240-1246 (1999). Se llevó a cabo un estudio monocéntrico aleatorizado, con doble enmascaramiento y controlado con placebo del semihidrato de la forma A de la sal de HCl del compuesto (1) (en lo sucesivo en este ejemplo, simplemente compuesto (1)) en voluntarios sanos a los que se inoculó la cepa viva del virus de la gripe A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). Los sujetos recibieron cinco dosis diarias de placebo (N = 33) o compuesto (1) una vez al día (QD) (en forma de cápsula que consistía en el compuesto (1) puro): 100 mg (N=16),

15 400 mg (N=19) o 900 mg en el día 1 seguido de 600 mg en los días 2-5 (N=20) o 1200 mg en el día 1 seguido de 600 mg en los días 2-5 (N=18). Los sujetos se sometieron a tres frotis nasales diarios y se les sometió a tres cuestionarios diarios de síntomas clínicos entre los días 1-7 y se les dio el alta de las instalaciones en el día 8, con un seguimiento de seguridad aproximadamente en el día 28. Los frotis nasales se ensayaron respecto de virus de la gripe en cultivo celular (análisis primario) y mediante qRT-PCR (análisis secundario).

20

Se llevaron a cabo análisis de eficacia en el conjunto de análisis completo (FA), definido como todos los sujetos aleatorizados que recibieron al menos una dosis del fármaco del estudio (compuesto (1) o placebo) y cuyas concentraciones víricas fueron superiores o iguales al límite inferior de cuantificación para el ensayo de cultivo celular de TCID₅₀ en cualquier punto de tiempo entre las 48 h después de la inoculación o cuyo título de inhibición de la hemaglutinación aumentó 4 veces o más respecto de la basal (día 1) en el periodo posterior a la inoculación (N=74). El conjunto de seguridad incluyó todos los sujetos a los que se inoculó la gripe en el día 0 y que recibieron al menos una dosis de placebo o de compuesto (1) (N=104).

Evaluación de la eficacia

La medida primaria en este estudio fue demostrar una tendencia de respuesta a la dosis en la ABC de dispersión del virus entre los días del estudio 1 (primer día de administración del fármaco) hasta el 7, medida mediante TCID₅₀ en ensayo de cultivo celular en el grupo FA. Se observó una tendencia de respuesta a la dosis estadísticamente significativa en la ABC de dispersión del virus en los frotis nasales (P = 0,036, prueba de tendencia de Jonckheere-Terpstra). Además, se llevaron a cabo comparaciones por pares entre el grupo de placebo agrupado y cada grupo de dosis de compuesto (1) respecto de la ABC de dispersión del virus, la mediana de la duración de la dispersión y la media de la magnitud de la dispersión vírica máxima (tabla 27). Se observó una reducción estadísticamente significativa de la ABC de dispersión del virus para el grupo de dosis de 1200/600 mg (P=0,010, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon) y se observaron reducciones significativas en el máximo de dispersión para el grupo de dosis de 1200/600 mg (FIG. 1), el grupo de dosis de 400 mg y los grupos de dosis de compuesto (1) agrupados. Se llevaron a cabo análisis del grupo FA adicionales (datos no mostrados).

La dispersión nasal de la gripe también se cuantificó mediante qRT-PCR y los resultados fueron similares a los observados en cultivo celular. No hubo diferencias en las tasas de seroconversión entre los grupos de dosis de compuesto (1) y placebo, según se definió por un aumento de factor 4 o mayor en el título antigripal respecto del valor basal antes de la inoculación, lo que sugiere que el compuesto (1) dosificado 24 h después de la inoculación de la gripe no afectó a la velocidad de adquisición de la infección por gripe y no eliminó la posterior respuesta inmunitaria humoral frente a la infección (tabla 28A).

Los sujetos registraron los síntomas clínicos tres veces al día en sus diarios. Se calculó la ABC de las puntuaciones de síntomas clínicos y gripales desde el día 1 hasta el día 7. En comparación con placebo, el grupo de dosis de 1200/600 mg de compuesto (1) mostró una reducción estadísticamente significativa en la mediana de duración de los síntomas clínicos compuestos (P=0,001), la mediana de la ABC de síntomas gripales (P=0,040) y la mediana de la duración de los síntomas gripales (P=0,001) (tabla 28B).

Tabla 28A: Mediana de ABC de dispersión vírica, mediana de la duración de la dispersión y media de la magnitud de la dispersión vírica máxima.

Criterio de valoración [unidades]		Placebo agrupado (N=22)	Compuesto (1)				
			100 mg (N=12)	400 mg (N=12)	900/600 mg (N=14)	1200/600 mg (N=14)	Agrupado (N=52)
Dispersión del virus por cultivo tisular ^a	ABC, mediana (intervalo)	5,85	1,25	0,70	3,20	0,35	0,65
	[log ₁₀ TCID ₅₀ ml*día]	(0,0, 17,1)	(0,0, 16,1)	(0,0, 18,0)	(0,0, 16,1)	(0,0, 8,4)	(0,0, 18,0)
	Valor de P ^b	NA	0,269	0,206	0,723	0,010	0,057
	Duración, mediana	2,38	0,96	1,60	2,71	0,00	0,71
	(IC del 95 %)[Día]	(0,03, 4,63)	(0,00, 3,39)	(0,00, NA)	(0,00, 4,68)	(0,00, 1,33)	(0,00, 2,43)
	Valor de P ^d	NA	0,331	0,831	0,893	0,169	0,487
	Pico, media (DT)	3,13	2,09	1,73	2,68	1,00	1,87
	[log ₁₀ TCID ₅₀ /ml]	(1,878)	(2,209)	(1,976)	(2,201)	(1,365)	(2,002)
	Valor de P ^c	NA	0,139	0,049	0,505	0,002	0,015
Dispersión vírica por qRT-PCR ^e	ABC, mediana (intervalo)	18,40	6,05	4,90	10,65	0,45	3,45
	[log ₁₀ copias/ml*día]	(0,0, 42,1)	(0,0, 41,9)	(0,0, 36,9)	(0,0, 37,1)	(0,0, 24,7)	(0,0, 41,9)
	Valor de P ^b	NA	0,218	0,306	0,821	0,014	0,075
	Duración, mediana	2,91	0,96	1,36	2,39	0,00	0,71

	(IC del 95 %)[Día]	(0,03, 5,35)	(0,00, 3,39)	(0,00, NA)	(0,00, 5,01)	(0,00, 0,66)	(0,00, 2,394)
	Valor de P^a	NA	0,318	0,753	0,602	0,084	0,238
	Pico, media (DT)	5,36	4,36	3,90	5,08	2,37	3,91
	[log ₁₀ TCID ₅₀ /ml]	(3,108)	(3,379)	(3,514)	(3,097)	(2,861)	(3,276)
	Valor de P^c	NA	0,380	0,202	0,794	0,007	0,081
Serología ^f	Seroconversión,	21/32	11/16	9/19	13/19	12/18	45/72
	n/N (%)	(66 %)	(69 %)	(47 %)	(68 %)	(67 %)	(63 %)
	Valor de P	NA	>0,999	0,247	>0,999	>0,999	0,828

ABC: área bajo la curva de valor frente al tiempo; IC: intervalo de confianza; NA: no aplicable; qRT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa cuantitativa; DT: desviación típica; TCID₅₀: 50 % de la dosis infecciosa en cultivo tisular.

Nota: Los valores de P estadísticamente significativos ($P<0,05$) están en fuente negrita.

^a $P=0,036$ para la tendencia de respuesta a la dosis de la ABC de la prueba de tendencia de Jonckheere-Terpstra.

^b Valor de P calculado a partir de la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

^c Valor de P calculado mediante ANOVA.

^d Valor de P calculado a partir de la prueba de rangos logarítmicos.

^e $P=0,031$ para la tendencia de respuesta a la dosis de la ABC de la prueba de tendencia de Jonckheere-Terpstra.

^f Seroconversión definida como aumento ≥ 4 veces en el título de anticuerpo en la visita de seguimiento en comparación con el basal. Valor de P calculado usando la prueba exacta de Fisher.

Tabla 28B: Mediana de ABC, mediana de duración y media de la magnitud del pico, de síntomas clínicos compuestos y de síntomas gripales.

Criterio de valoración [unidades]		Placebo agrupado (N=22)	Compuesto (1)				
			100 mg (N=12)	400 mg (N=12)	900/600 mg (N=14)	1200/600 mg (N=14)	Agrupado (N=52)
Síntoma clínico compuesto	ABC, mediana (intervalo)	4,85	1,85	4,70	1,75	1,95	2,15
	[Grado* día]	(0,0, 23,5)	(0,0, 25,3)	(0,0, 16,0)	(0,0, 32,3)	(0,0, 5,5)	(0,0, 32,3)
	Valor de P^b	NA	0,422	0,694	0,595	0,83	0,211
	Duración, mediana	3,69	3,21	3,34	2,69	1,88	2,34
	(IC del 95 %)[Día]	(2,04, 4,73)	(0,03, 5,43)	(1,28, 4,63)	(0,00, 4,61)	(0,00, 2,24)	(1,87, 3,06)
	Valor de P^d	NA	0,946	0,994	0,686	0,001	0,355
	Pico, media (DT)	3,91	3,17	2,83	3,71	1,50	2,79
	[Grado]	(3,637)	(3,881)	(2,167)	(4,232)	(1,286)	(3,158)
	Valor de P^c	NA	0,532	0,366	0,863	0,036	0,187
Síntoma gripal	ABC, mediana (intervalo)	4,05	1,85	3,80	1,75	1,75	2,05
	[Grado*Día]	(0,0, 17,7)	(0,0, 21,3)	(0,0, 14,0)	(0,0, 28,6)	(0,0, 4,4)	(0,0, 28,6)
	Valor de P^b	NA	0,363	0,617	0,595	0,040	0,149
	Duración, mediana	3,69	3,21	3,34	2,69	1,88	2,34
	(IC del 95 %)[Día]	(2,04, 4,73)	(0,00, 5,40)	(1,28, 4,63)	(0,00, 4,61)	(0,00, 2,24)	(1,87, 3,00)
	Valor de P^d	NA	0,957	0,994	0,653	<0,001	0,342
	Pico, media (DT)	3,41	2,75	2,42	3,21	1,36	2,42
	[Grado]	(3,003)	(3,361)	(1,832)	(3,534)	(1,216)	(2,689)
	Valor de P^c	NA	0,511	0,323	0,838	0,034	0,168

ABC: área bajo la curva de valor frente al tiempo; IC: intervalo de confianza; NA: no aplicable.

Nota: Los valores de *P* estadísticamente significativos ($P < 0,05$) están en fuente negrita.

^b Valor de *P* calculado a partir de la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

^c Valor de *P* calculado mediante ANOVA.

^d Valor de *P* calculado a partir de la prueba de rangos logarítmicos.

Evaluación de seguridad

- El compuesto (1) se toleró bien y no hubo abandonos debido a efectos adversos (AE) relacionado con el compuesto (1) ni tampoco se produjeron eventos adversos graves. Se presenta una lista de los eventos adversos que se producen en >10 % de sujetos en cualquier grupo de tratamiento (tabla 29). La enfermedad gripal fue el acontecimiento adverso comunicado con mayor frecuencia por aproximadamente una proporción igual de sujetos en los grupos de placebo y de compuesto (1). Los eventos adversos que se produjeron con una diferencia ≥ 10 % en su incidencia entre los grupos de compuesto (1) y los receptores de placebo fueron: reducción del nivel de fósforo en sangre (18,1 %, compuesto (1); 0 %, placebo), rinorrea (compuesto (1), 4,2 %; 18,8 %, placebo) y congestión nasal (1,4 %, compuesto (1); 15,6 % placebo). Además, se observaron elevaciones en alanina aminotransferasa (ALT) en los receptores tanto de placebo como de compuesto (1). No se observaron ni anomalías en la función hepática ni reducciones de fosfato sérico en el estudio de escalada de la dosis primero en seres humanos del compuesto (1) en dosis únicas de hasta 1600 mg y múltiples dosis de hasta 800 mg a diario durante 10 días; tanto las elevaciones de ALT como las reducciones de fosfato sérico se han comunicado previamente con infecciones víricas respiratorias superiores.

Tabla 29: Una lista de eventos adversos que se producen en ≥ 10 % de los sujetos en cualquier grupo de tratamiento.

Término preferido	Placebo agrupado	Compuesto (1)				
		100 mg	400 mg	900/600 mg ^a	1200/600 mg ^b	Agrupado
	N=32 n(%)	N=16 n(%)	N=19 n(%)	N=19 n(%)	N=18 n(%)	N=72 n(%)
Enfermedad gripal ^c	12 (37,5)	8 (50,0)	10 (52,6)	9 (47,4)	7 (38,9)	34 (47,2)
Aumento de alanina aminotransferasa	5 (15,6)	3 (18,8)	1 (5,3)	0	6(33,3)	10 (13,9)
Reducción de fósforo en sangre	0	3 (18,8)	0	6(31,6)	4 (22,2)	13 (18,1)
Espirometría anormal	2 (6,3)	2 (12,5)	4 (21,1)	0	4 (22,2)	10 (13,9)
Rinorrea	6(18,8)	0	2 (10,5)	0	1 (5,6)	3 (4,2)
Cefalea	2 (6,3)	1 (6,3)	4 (21,1)	0	2(11,1)	7 (9,7)
Dermatitis de contacto	3 (9,4)	3 (18,8)	0	0	0	3 (4,2)
Congestión nasal	5(15,6)	0	0	0	1 (5,6)	1 (1,4)
Aumento de aspartato aminotransferasa	1(3,1)	1 (6,3)	1 (5,3)	0	2(11,1)	4 (5,6)
Dolor orofaríngeo	1 (3,1)	2 (12,5)	0	1 (5,3)	0	3 (4,2)
Cefalea tensional	1 (3,1)	0	2 (10,5)	1 (5,3)	0	3 (4,2)
Malestar	1 (3,1)	2 (12,5)	0	0	0	2 (2,8)
Nauseas	0	0	2 (10,5)	1 (5,3)	0	3 (4,2)

Notas: Se contó un sujeto con múltiples eventos una vez en los AE. Los sujetos pueden aparecer en múltiples categorías.

^aUna sola dosis de carga de 900 mg en el día 1 y 600 mg qd en los días 2 hasta 5.

^bUna sola dosis de carga de 1200 mg en el día 1 y 600 mg qd en los días 2 hasta 5.

^cEnfermedad gripal, como se define en el análisis de eficacia, se evaluó basándose en los parámetros listados en el texto. Los AE de la enfermedad gripal se determinaron por un médico.

20 Discusión

- En un estudio de exposición a gripe en voluntarios sanos, el compuesto (1) demostró una tendencia de respuesta a la dosis en la ABC del título vírico en los frotis nasales tanto mediante TCID₅₀ de cultivo tisular como por qRT-PCR y la dosis más elevada de compuesto (1) evaluada causó una reducción significativa en la ABC del título vírico así como en la ABC y la duración de los síntomas de gripe. Sin embargo, no se observó una magnitud similar de mejora frente a placebo en el segundo grupo de dosis más alta, 900/600 mg (tabla 27), esta dosis demostró resultados similares a la dosis de 1200/600 mg con respecto a la mediana de ABC para los criterios de valoración de síntoma

clínico compuesto y síntoma gripal (tabla 28); no se entienden por completo los motivos de esta discrepancia. Aunque no se observaron tendencias de seguridad definitivas en el ensayo de POC, las reducciones de fosfato y las elevaciones de ALT observadas sugieren que será necesario emplear un control adecuado de ambos parámetros en estudios futuros.

5 En su conjunto, las limitaciones del modelo de exposición a gripe son que el virus de la gripe utilizado en este estudio es una cepa que se ha seleccionado específicamente para no producir los síntomas clínicos más graves de infección por el virus de la gripe. Además, el inóculo vírico administrado es probablemente mayor que el inóculo en la exposición natural a la gripe. El tiempo de dosificación de compuesto (1) 24 h después de la exposición puede no ser
10 un espacio de tiempo realista para iniciar la terapia en una situación comunitaria en la que los pacientes no solicitan un diagnóstico o tratamiento hasta que han desarrollado síntomas sustanciales, probablemente más de 24 h después de la exposición. Sin embargo, dado que los sujetos infectados de manera natural se inoculan inicialmente con un título vírico mucho menor, las escalas de tiempo no pueden compararse directamente.

15 En resumen, el compuesto (1) es un potente inhibidor de PB2 de la gripe A que representa una clase novedosa y distinta de agente antivírico. Las propiedades de este inhibidor, como se describen por los datos tanto preclínicos como clínicos, indican que el compuesto (1) es un candidato prometedor para evaluación futura con varias ventajas potenciales frente a los agentes antivíricos actuales usados para tratar la infección gripal.

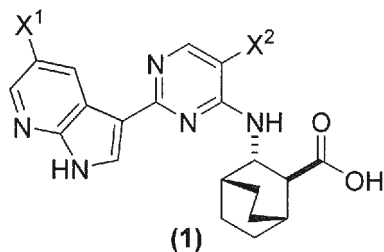
20 Todas las referencias proporcionadas en el presente documento se incorporan al presente documento en su totalidad por referencia. Tal como se usa en el presente documento, todas las abreviaturas, símbolos y convenciones son coherentes con las usadas en la bibliografía científica contemporánea. Véase, por ejemplo, Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2ª Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997.

25 OTRAS REALIZACIONES

Cabe destacar que aunque la invención se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones
30 adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones se encuentran dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

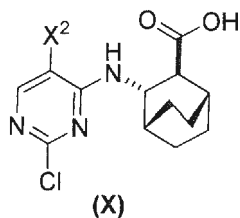
REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el compuesto (1) está representado por la siguiente fórmula estructural:

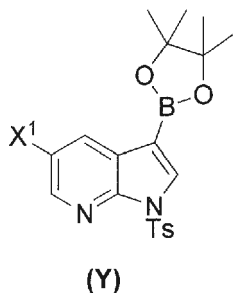


que comprende:

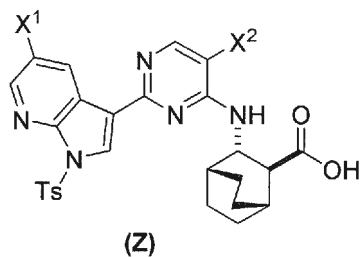
(a) hacer reaccionar el compuesto (X)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y)



en presencia de un catalizador de paladio y una base para formar el compuesto (Z)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

(b) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde:

cada uno de X^1 y X^2 es independientemente -F o -Cl;

Ts es tosilo;

el catalizador de paladio comprende un complejo de paladio-XPhos, donde XPhos es 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo; y

la base es una base de fosfato o una base de carbonato.

5

2. El método de la reivindicación 1, en donde el complejo de paladio-XPhos se prepara *in situ* mezclando una fuente de Pd(0) o de Pd(II) con XPhos, en donde la fuente de Pd(0) o de Pd(II) comprende opcionalmente Pd₂(dba)₃, Pd(OAc)₂, PdCl₂ o cualquier combinación de los mismos, en donde dba es dibencilidenacetona y OAc es acetato y donde el complejo de paladio-XPhos se prepara opcionalmente *in situ* mezclando Pd(OAc)₂ y XPhos.

10

3. El método de las reivindicaciones 1-2, en donde cada uno de X¹ y X² es -F; o X¹ es -Cl y X² es -F; y/o en donde, opcionalmente, la base es una base de fosfato o una base de carbonato seleccionadas entre Na₂CO₃, K₂CO₃, K₃PO₄ o Na₃PO₄.

15

4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la etapa (a) se realiza en un sistema disolvente que comprende agua y un disolvente orgánico seleccionado entre 2-metil THF o THF o cualquier combinación de los mismos.

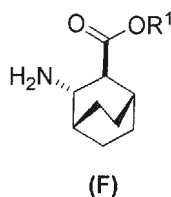
20

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la etapa (b) comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico que comprende LiOH, NaOH, KOH o cualquiera de sus combinaciones, en donde la etapa (b) opcionalmente comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con LiOH en un sistema disolvente que comprende THF.

25

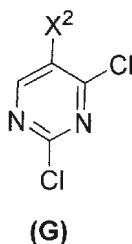
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además:

(c) hacer reaccionar el compuesto (F)



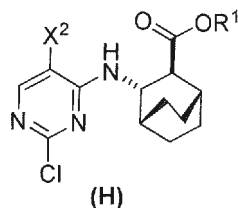
30

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (G)



35

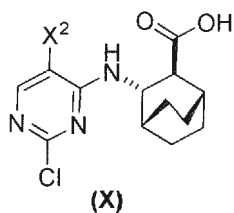
para formar el compuesto (H)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹ es alquilo C₁₋₄; y

(d) hidrolizar el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (X)

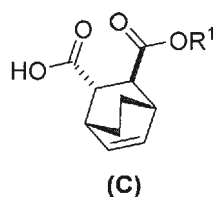
40



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

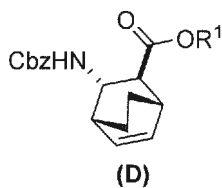
5 7. El método de la reivindicación 6, que comprende además:

(e) hacer reaccionar el compuesto (C)



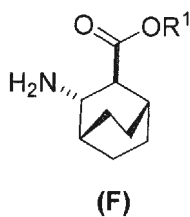
10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida y con alcohol bencílico para formar el compuesto (D)



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde Cbz es carboxibencilo; y
(f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono para formar el compuesto (F)



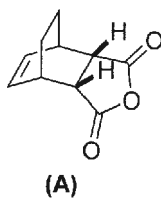
20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

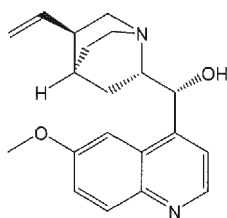
8. El método de una de las reivindicaciones 6 o 7, que comprende además:

25

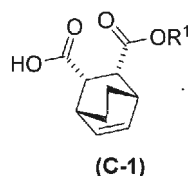
(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



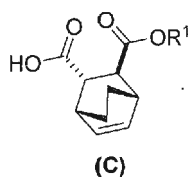
con quinina



- 5 y R¹-OH para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1)



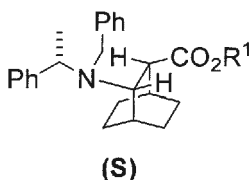
- 10 en donde R¹ es alquilo C₁₋₄;
(h) romper el aducto de quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
(i) epimerizar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (C)



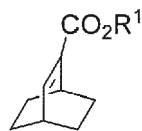
- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 9. El método de la reivindicación 8, en donde la etapa de epimerización comprende tratar el compuesto (C-1) con un alcóxido C₁₋₆, en donde el alcóxido C₁₋₆ comprende opcionalmente *tert*-butóxido, *tert*-amilato o cualquier combinación de los mismos; y/o en donde R¹ opcionalmente es etilo.

10. El método de la reivindicación 6, comprende además hidrogenación del compuesto (S)



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Ph es fenilo, en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el catalizador de paladio comprende Pd(0) sobre carbono (Pd(0)/C), Pd(OH)₂ sobre carbono o cualquier combinación de los mismos, en
30 donde el método además comprende opcionalmente hacer reaccionar el compuesto (R)

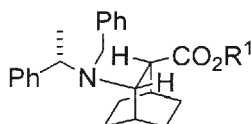


(R)

con

S-(-)-N-bencil-alfa-metilbencilamino de litio para formar el compuesto (S)

5

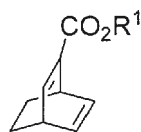


(S)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y, opcionalmente, donde el método además comprende opcionalmente:

10

(j) hacer reaccionar 1,3-ciclohexadieno con $\text{CH}\equiv\text{CHC}(\text{O})\text{OR}^1$ en presencia de un catalizador de aluminio para formar el compuesto (Q)

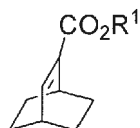


(Q)

15

donde R^1 es alquilo C_{1-4} y

(k) hidrogenar el compuesto (Q) para formar el compuesto (R)



(R)

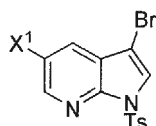
20

donde R^1 opcionalmente es etilo y/o en donde el catalizador de aluminio comprende EtAlCl_2 , Et_2AlCl , una mezcla de AlCl_3 y triocetilaluminio o cualquier combinación de los mismos y/o en donde la hidrogenación del compuesto (R) comprende hacer reaccionar el compuesto (R) con H_2 en presencia de un catalizador de $\text{Rh}(\text{I})$ un catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado, en donde el catalizador de $\text{Rh}(\text{I})$ opcionalmente comprende $(\text{PPh}_3)_3\text{RhCl}$, una mezcla de $(\text{PPh}_3)_3\text{RhCl}$ y propiolato de etilo o cualquiera de sus combinaciones, en donde Ph es fenilo; o en donde el catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado opcionalmente comprende un catalizador de $\text{Pd}(0)$ envenenado con plomo sobre CaCO_3 ($\text{Pd}(\text{Pb})/\text{CaCO}_3$).

25

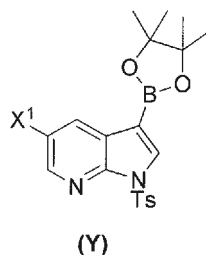
11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además hacer reaccionar el compuesto (O)

30

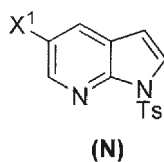


(O)

con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio que comprende un ligando de fosfina para formar el compuesto (Y)



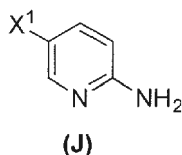
- 5 12. El método de la reivindicación 11, en donde el catalizador de paladio que comprende un ligando de fosfina es $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$, y/o en donde el método comprende además tratar el compuesto (N)



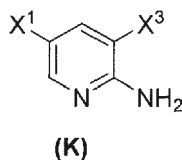
- 10 con un agente de bromación que comprende Br_2 , N-bromosuccinimida, 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína o cualquiera de sus combinaciones para formar el compuesto (O).

- 15 13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 11-12, que comprende además:

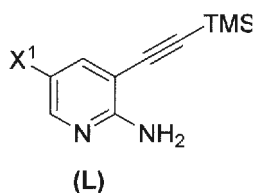
(l) hacer reaccionar el compuesto (J)



- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un agente de yodación o un agente de bromación para formar el compuesto (K)

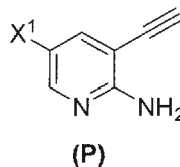


- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde X^3 es Br o I;
(m) hacer reaccionar el compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto (L)



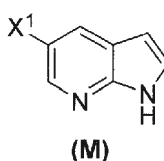
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde TMS es trimetilsililo;

(n) hacer reaccionar el compuesto (L) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con una base de alcóxido C₁₋₆ para formar el compuesto (P)



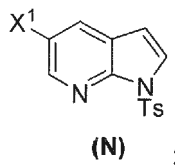
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(o) hacer reaccionar el compuesto (P) con *tert*-butóxido de potasio, *tert*-amilato de potasio o cualquier combinación de los mismos para formar el compuesto (M)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

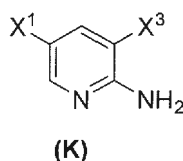
(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N)



en donde, opcionalmente, la base de alcóxido C₁₋₆ comprende *tert*-amilato de potasio, *tert*-butóxido de potasio, metóxido de potasio, *tert*-amilato sódico, *tert*-butóxido sódico, metóxido sódico o cualquier combinación de los mismos; y/o en donde la reacción del compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno se realiza en presencia de un catalizador de paladio que comprende Pd(Ph₃P)₄, Pd(PPh₃)₂Cl₂, Pd(dppf)₂Cl₂ o cualquiera de sus combinaciones, un catalizador de haluro de cobre (I) o cualquiera de sus combinaciones; en donde, opcionalmente, la reacción del compuesto (K) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con trimetilsilil acetileno se realiza en presencia de CuI, Pd(PH₃)₄, Pd(PPh₃)₂Cl₂, Pd(dppf)₂Cl₂ o cualquier combinación de los mismos; y/o en donde la etapa de tosilación xiv) opcionalmente se realiza haciendo reaccionar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con TsCl; y/o en donde el compuesto (J) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo opcionalmente se hace reaccionar con un agente de yodación que comprende I₂, ICl, *N*-yodosuccinimida y en donde X³ es I; y/o en donde el compuesto (J) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se hace reaccionar con un agente de bromación que comprende Br₂, *N*-bromosuccinimida, 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina o cualquiera de sus combinaciones y en donde X³ es Br.

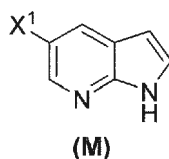
14. El método de la reivindicación 12, que comprende además:

(q) hacer reaccionar el compuesto (K)

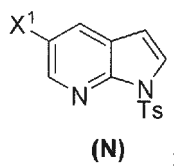


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un catalizador de paladio que comprende una mezcla de bis(dibencilidenoacetona) paladio y un ligando de fosfina terciaria, PR₃, en donde

R es C₁₋₆ alquilo o cicloalquilo C₅₋₆, para formar el compuesto (M)



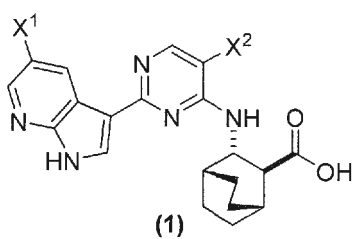
- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X³ es Br o I; y
(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N)



- 10 en donde, opcionalmente, el ligando de fosfina terciaria, PR₃ comprende P^t(Bu)₃, PCy₃, P(*i*-Pr)₃, P(Bu₃), PEt₃, PMe₃ o cualquiera de sus combinaciones.

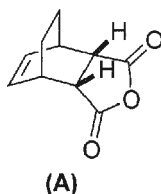
- 15 15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, que comprende además tratar el compuesto (1), tras la etapa de desprotección (b), con HCl en un sistema disolvente que comprende agua y uno o más disolventes orgánicos para formar una sal de HCl del compuesto (1), en donde el disolvente orgánico se selecciona entre acetonitrilo, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 1,4-dioxano, 2-etoxietanol, etilenglicol, formamida, hexano, metanol, 2-metoxietanol, metil butil cetona, metilciclohexano, N-metilpirrolidona, nitrometano, piridina, sulfolano, tetrahidrofurano (THF), tetralina, tolueno, 1,1,2-tricloroetano, xileno, ácido acético, acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butilo, éter de *tert*-butilmetilo, cumeno, heptano, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-1-butanol, metil etil cetona, metil isobutil cetona, 2-metil-1-propanol, dimetilsulfóxido, etanol, acetato de etilo, éter etílico, formiato de etilo, ácido fórmico, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, acetato de propilo o cualquiera de sus combinaciones.

- 25 16. Un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el compuesto (1) está representado por la siguiente fórmula estructural:

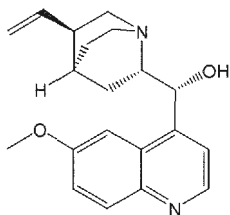


- 30 que comprende:

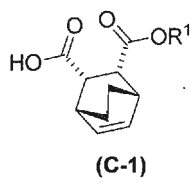
(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



- 35 con quinina



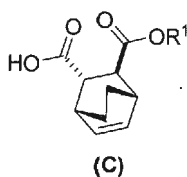
y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1)



5

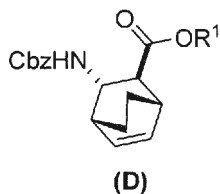
(h) romper el aducto de quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 (i) epimerizar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (C)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

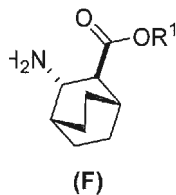
15 (e) hacer reaccionar el compuesto (C) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con difenilfosforil azida y alcohol bencílico para formar el compuesto (D)



20

en donde Cbz es carboxilbencilo;

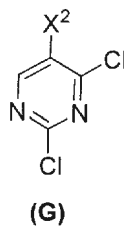
(f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar el compuesto (F)



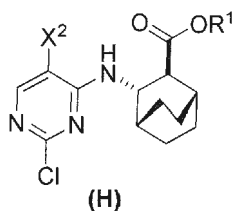
25

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(c) hacer reaccionar el compuesto (F) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (G)



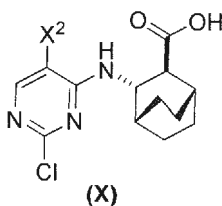
para formar el compuesto (H)



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

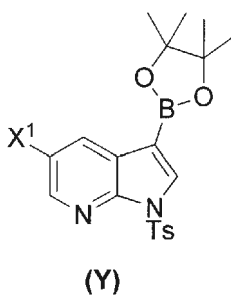
(d) hidrolizar el compuesto (H) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (X)



10

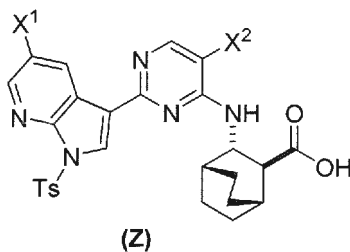
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(a) hacer reaccionar el compuesto (X) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y)



15

en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Z)



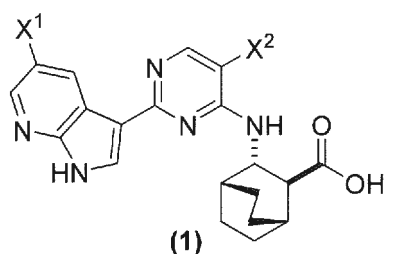
20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

(b) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y en donde:

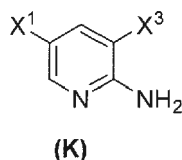
X^1 y X^2 son independientemente -F o -Cl;
Ts es tosilo; y
cada R^1 es independientemente etilo.

- 5 17. El método de la reivindicación 16, en donde el catalizador de paladio de la etapa (a) comprende un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o de carbonato, en donde XPhos es 2-diciclohexilfosfin-2',4',6'-triiisopropilbifenilo y, opcionalmente, en donde la base de carbonato comprende Na_2CO_3 , K_2CO_3 o una de sus combinaciones y la base de fosfato comprende K_3PO_4 , Na_3PO_4 o una de sus combinaciones.
- 10 18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 16-17, en donde la etapa de desprotección (b) comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico que comprende LiOH, NaOH, KOH o cualquiera de sus combinaciones; y/o en donde, opcionalmente, cada uno de X^1 y X^2 es -F; o X^1 es -Cl y X^2 es -F; y/o en donde, opcionalmente, la etapa de epimerización (c) comprende tratar el compuesto (C-1) con un alcóxido C_{1-6} , comprendiendo dicho alcóxido C_{1-6} opcionalmente *terc*-butóxido, *terc*-amilato
- 15 o cualquier combinación de los mismos.
19. Un método para preparar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el compuesto (1) está representado por la siguiente fórmula estructural:

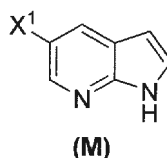


que comprende:

(q) hacer reaccionar el compuesto (K)

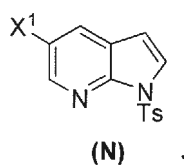


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con acetaldehído en presencia de un primer catalizador de paladio para formar el compuesto (M)

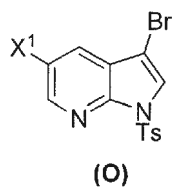


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

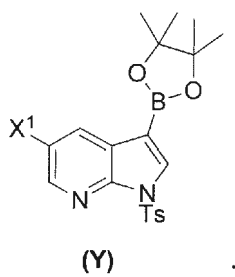
(p) tosilar el compuesto (M) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (N)



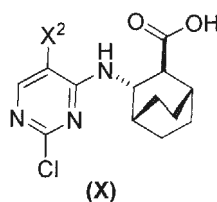
(s) bromar el compuesto (N) para formar el compuesto (O)



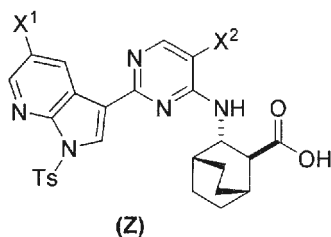
(t) hacer reaccionar el compuesto (O) con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador de paladio para formar el compuesto (Y)



(a) hacer reaccionar el compuesto (X):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el compuesto (Y) en presencia de un segundo catalizador de paladio para formar el compuesto (Z):



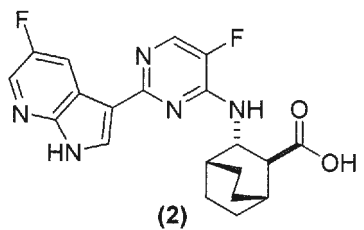
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

(b) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X¹ y X² son independientemente -F o -Cl; X³ es -Br; y Ts es tosilo.

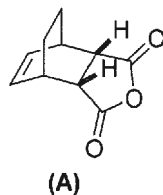
20. El método de la reivindicación 19, en donde el segundo catalizador de paladio de la etapa (a) comprende un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o una base de carbonato, donde XPhos es 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo; en donde la base de fosfato comprende opcionalmente K₃PO₄ y la base de carbonato comprende K₂CO₃; y/o en donde la desprotección de la etapa (f) comprende tratar el compuesto (Z) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un hidróxido inorgánico que comprende LiOH, NaOH, KOH o cualquiera de sus combinaciones; y/o en donde el primer catalizador de paladio de la etapa (a) opcionalmente comprende una mezcla de bis(dibencilidenoacetona) paladio y un ligando de fosfina terciaria, PR₃, en donde R es C₁₋₆ alquilo o C₅₋₆ cicloalquilo, comprendiendo dicho ligando de fosfina terciaria opcionalmente P^t(Bu)₃; y/o en donde, opcionalmente, cada uno de X¹ y X² es -F o X¹ es -Cl y X² es -F.

21. Un método para preparar el compuesto (2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el compuesto (2) está representado por la siguiente fórmula estructural:

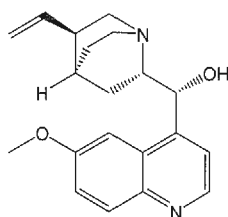


5 que comprende:

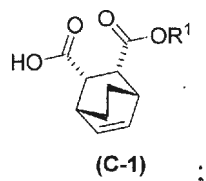
(g) hacer reaccionar el compuesto (A)



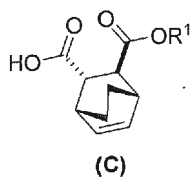
10 con quinina



15 y alcohol etílico para formar un aducto de quinina y el compuesto (C-1):

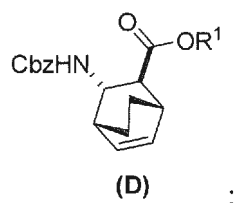


20 (h) romper el aducto de quinina y el compuesto (C-1) tratando el aducto con HCl para formar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(i-1) hacer reaccionar el compuesto (C-1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un alcóxido C₁₋₆ seleccionado entre un *tert*-butóxido o un *tert*-amilato para formar el compuesto (C)

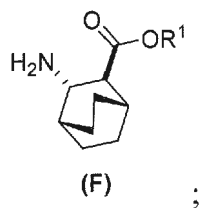


25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
(e) hacer reaccionar el compuesto (C) con difenilfosforil azida y después con alcohol bencílico para formar el

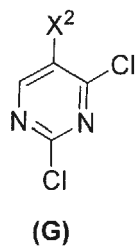
compuesto (D)



- 5 (f) hacer reaccionar el compuesto (D) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con H₂ en presencia de un catalizador de Pd sobre carbono (Pd(0)/C) para formar una sal de HCl del compuesto (F)

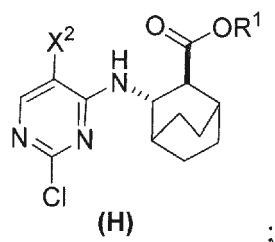


- 10 (r) hacer reaccionar la sal de HCl del compuesto (F) con el compuesto (G),

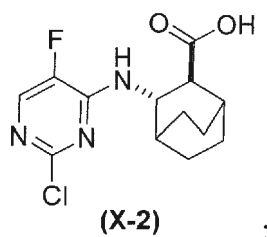


para formar el compuesto (H)

15

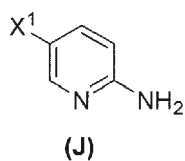


(h-1) hidrolizar el compuesto (H) para formar el compuesto (X-2)

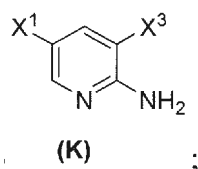


20

(1) yodar o bromar el compuesto (J):

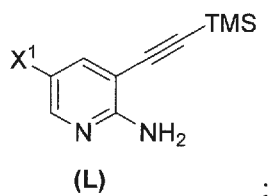


para formar el compuesto (K)



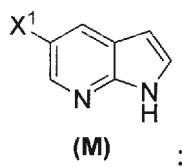
5

(q-1) hacer reaccionar el compuesto (K) con trimetilsilil acetileno para formar el compuesto (L)



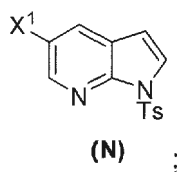
10

(j) hacer reaccionar el compuesto (L) con un alcóxido C₁₋₆ para formar el compuesto (M)



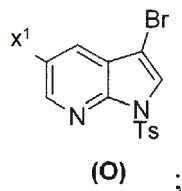
15

(k) tosilar el compuesto (M) para formar el compuesto (N)



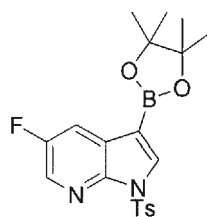
20

(s) bromar el compuesto (N) para formar el compuesto (O)



25

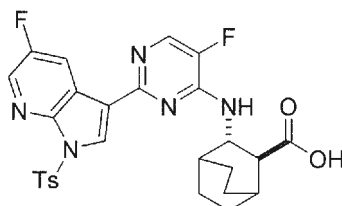
(t) hacer reaccionar el compuesto (O) con bis(pinacolato)diboro en presencia de Pd(Ph₃P)₄ para formar el compuesto (Y-2)



(Y-2) ;

(n) hacer reaccionar el compuesto (X-2) con el compuesto (Y-2) en presencia de un complejo de paladio-XPhos y una base de fosfato o de carbonato seleccionada entre K_2CO_3 o K_3PO_4 para formar el compuesto (Z-2)

5



(Z-2)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

(o) desproteger el grupo Ts del compuesto (Z-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para formar el compuesto (2) una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

10

en donde:

Cbz es carboxilbencilo;

XPhos es 2-diciclohexilfosfin-2',4',6'-triisopropilbifenilo;

Ts es tosilo;

cada R^1 es independientemente etilo;

cada X^1 es independientemente F;

cada X^2 es independientemente F; y

cada X^3 es independientemente Br o 1.

20

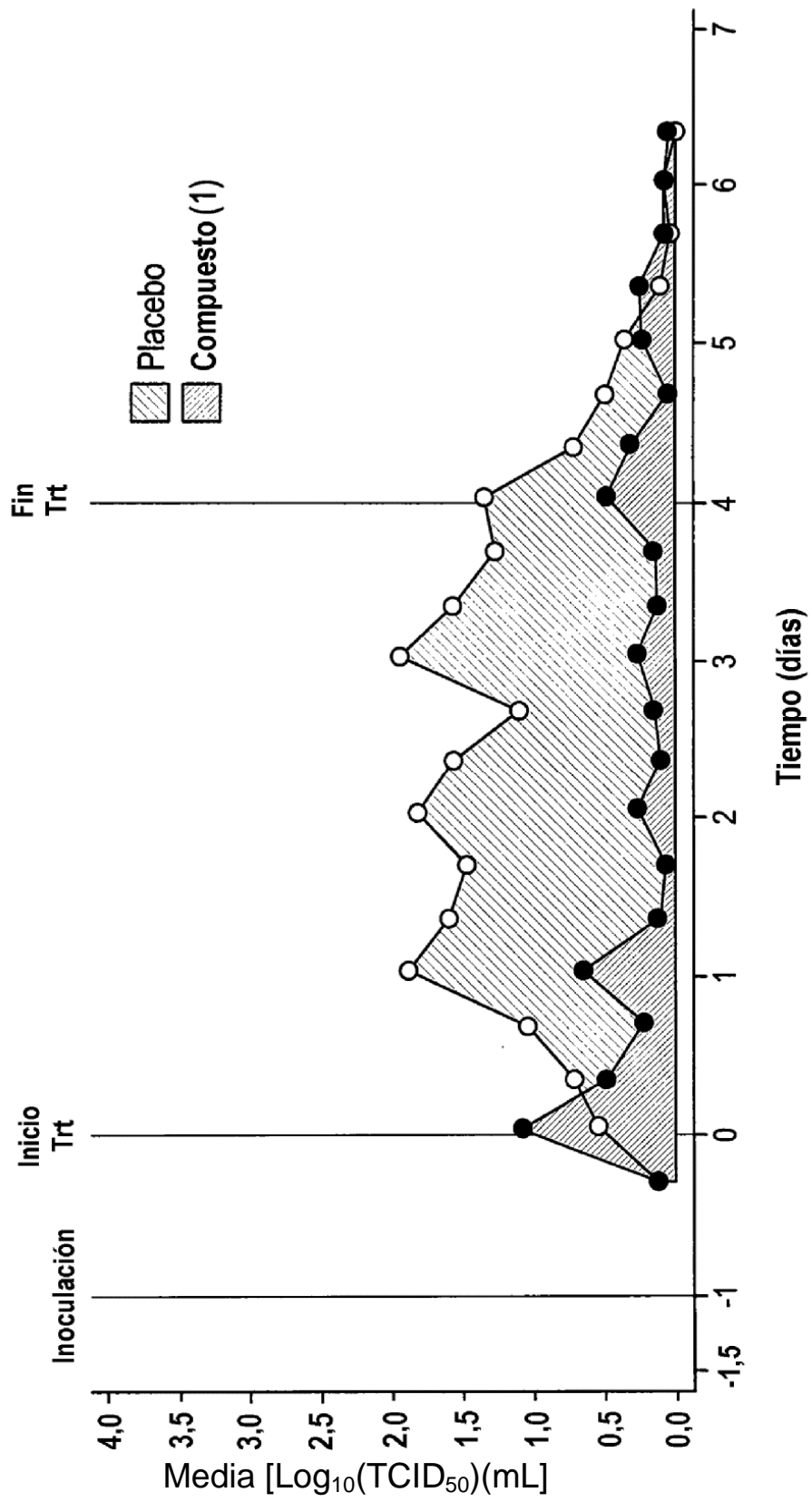


FIG. 1